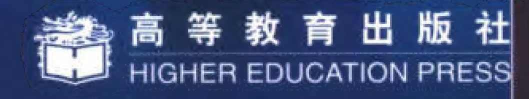


普通高等教育“十五”国家级规划教材

法医毒物分析

主编　廖林川




ISBN 7-04-018651-9
9 787040 186512 >
定价 36.80 元

普通高等教育“十五”国家级规划教材

法医毒物分析

主　编　廖林川

副主编　张大明　沈敏

编　者　（以撰写章节顺序为序）

廖林川　（四川大学华西基础医学与法医学院）

张大明　（北京市公安局法医鉴定中心）

金　鸣　（华中科技大学法医学院）

刘俊亭　（中国医科大学法医学院）

王玉瑾　（山西医科大学法医学院）

颜有仪　（四川大学华西基础医学与法医学院）

沈　敏　（司法部司法鉴定科学技术研究所）

靳红卫　（重庆医科大学药学院）

高等教育出版社

内容提要

《法医毒物分析》是普通高等教育"十五"国家级规划教材，是针对高等法医学教育特点，结合作者教学工作体会及法医学鉴定工作实际经验编写而成的。

本教材共分为十二章，第一章主要介绍毒物的基本概念、法医毒物分析的任务、工作内容和历史发展等；第二章主要介绍检材特点及检材处理；第三章介绍各类常用分析方法的基本原理、特点、结果意义及方法可靠性验证；第四章针对目前毒物分析中应用普遍的仪器分析方法，就其常用方法种类、基本原理、定性定量方法等作了较为详细的介绍。第五章至第十二章分别介绍了各类毒物的来源、种类、用途、化学结构、理化性质、毒性、中毒特点、解剖所见、体内代谢过程等内容；也包括针对不同毒物如何取材、处理检材、检验方法以及结果判断。

本书可作为普通高等教育法医学专业本科生的专业教材使用，或作为药学专业选修课、法医专业继续教育的教材使用。也可供公、检、法以及医院等相关部门的相关人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

法医毒物分析/廖林川主编. —北京：高等教育出版社，2006.5

ISBN 7-04-018651-9

Ⅰ.法…　Ⅱ.廖…　Ⅲ.法医毒理学-高等学校-教材　Ⅳ.D919.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 027525 号

策划编辑 席　雁　**责任编辑** 席　雁　**封面设计** 张　楠　**责任绘图** 尹文军
版式设计 马静如　**责任校对** 王效珍　**责任印制** 宋克学

出版发行	高等教育出版社	购书热线	010-58581118
社　址	北京市西城区德外大街4号	免费咨询	800-810-0598
邮政编码	100011	网　址	http://www.hep.edu.cn
总　机	010-58581000		http://www.hep.com.cn
		网上订购	http://www.landraco.com
			http://www.landraco.com.cn
经　销	蓝色畅想图书发行有限公司	畅想教育	http://www.widedu.com
印　刷	高等教育出版社印刷厂		
开　本	850×1168　1/16	版　次	2006年5月第1版
印　张	16.75	印　次	2006年5月第1次印刷
字　数	370 000	定　价	36.80元

物料号　18651-00

前　言

法医毒物分析是法医学专业知识的重要组成部分，是高等院校法医学专业的一门专业课程。为了积极推进高等法医学教育改革，进一步提高我国高等法医学专业教育水平，适应21世纪人才培养的需求，在教育部和高等教育出版社的关心和支持下，普通高等教育“十五”国家级规划教材《法医毒物分析》得以顺利出版。

本教材以注重基本知识、基本理论、基本技能作为主导思想，但不过分注重术语的严格定义，对方法介绍也以描述其功能和结合具体示例的方式为主，具体操作步骤从简。希望读者能在阅读理解中，把握专业术语的内涵及操作方法的要求。

法医毒物分析是一门实践性、应用性很强的学科，编写时在注重“三基”的基础上，希望能体现专业的特点。通过在各章安排要点、案例和思考题，达到理论和实践有机地结合，帮助学生进一步理解教材中的一些观点，启发学生去思考，在给学生介绍有关毒物分析知识的同时，让学生学会运用这些知识分析问题、解决问题的思路。

本教材尽可能体现教材的思想性、科学性、先进性、启发性和适用性。强调注重详细了解案情，合理地采集和处理检材，正确地选择分析方法和理解分析结果意义的重要性，并将注重毒物来源、用途、性状、毒性、毒物体内过程、中毒症状、尸体解剖所见等知识对正确进行毒物分析工作重要性的理念贯穿在全书各章中，同时适当介绍相关知识点。

毒物的概念、种类和分析手段都是随着社会的发展和科技进步而变化的，以往因检材处理及分析手段限制难以解决的一些毒物分析问题，随着检材处理技术的发展和先进分析仪器的应用而逐步得到解决。本教材介绍了毒物分析领域的检材处理新技术，并对液相色谱-质谱联用、质谱-质谱联用等分析检测技术及其在生物检材分析中的应用进行了介绍；在毒物的种类方面，针对一些新近容易遇到的毒物如毒品、氯胺酮、麻醉剂、抗生素、除草剂等和以往因分析手段限制难以检测的毒物如强心苷、河豚毒素等适当作了相应的介绍。考虑到许多毒物进入人体后的变化，对有些毒物的代谢物种类及检测技术也作了介绍，以便能更好地适应当前工作的需要。

与以往教材相比，本教材在形式上有较大的突破。一方面，增加了要点、案例、操作条件示例、小结、思考题等部分，使教材的层次更具有立体感，有利于帮助学生阅读和理解；另一方面，采用双色印刷，图文并茂，使教材形式变得生动活泼，易为学生接受。

在本教材编写和出版过程中，得到了四川大学教务处、四川大学华西基础医学与法医学院、北京市公安局法医中心的支持，陈礼莉、侯俊红、傅强、陈渝、李雯佳、何荣等同学参与了部分制图和文字校对工作，在此谨致谢意。

由于编者知识水平有限，本教材中难免有不当和错误之处，敬请广大读者指正，以便今后改正。

廖林川

2005年12月

郑重声明

目录

第一章 绪论 1
第一节 毒物与中毒 1
一、毒物 1
二、中毒及毒性 2
三、毒物分类 3
四、毒物体内过程 4
五、中毒症状 4
第二节 毒物分析 5
一、毒物分析的定义 5
二、法医毒物分析的任务 6
三、法医毒物分析的特点 6
第三节 法医毒物分析工作内容 7
一、情况调查 7
二、检材采集、包装、贮存和运送 8
三、法医毒物分析工作程序 10
四、检验结果的判断及质量控制 12
第四节 毒物分析发展简史 13
一、国外简史 14
二、国内简史 15
小结 18
Summary 19
思考题 19

第二章 检材及检材处理 20
第一节 检材 20
一、体外检材 20
二、体内检材 21
第二节 检材处理 22
一、检材处理的必要性 22
二、检材处理的基本原理 23
三、选择检材处理方法的原则 23
四、检材处理方法 25
五、分离效率和验证 37
小结 37
Summary 38
思考题 38

第三章 分析方法概述 39
第一节 定性分析与定量分析 39
一、定性分析 39
二、定量分析 40
第二节 分析方法类别 41
一、形态学方法 41
二、动物试验方法 41
三、免疫分析法 42
四、理化分析法 43
五、仪器分析法 43
第三节 分析方法的可靠性验证 44
一、验证分析方法的主要项目 44
二、可靠性验证的实施方法 46
小结 48
Summary 48
思考题 49

第四章 仪器分析 50
第一节 光谱法 51
一、光与光谱 51
二、吸收光谱法 52
三、发射光谱法 60
第二节 色谱法 63
一、色谱与色谱分析 63
二、薄层色谱法 64
三、气相色谱法 66
四、高效液相色谱法 70
第三节 质谱法 75
一、质谱法的基本原理 75
二、质谱仪 76
三、质谱仪的应用 76

第四节 两谱联用技术 …… 76
一、气相色谱/质谱联用 …… 77
二、质谱/质谱联用 …… 78
三、液相色谱/质谱联用 …… 80
小结 …… 80
Summary …… 80
思考题 …… 81

第五章 气体毒物与挥发性毒物 …… 82
第一节 气体毒物 …… 83
一、一氧化碳 …… 83
二、硫化氢 …… 87
第二节 挥发性毒物 …… 87
一、概述 …… 87
二、挥发性毒物的检验 …… 88
小结 …… 95
Summary …… 96
思考题 …… 96

第六章 医用合成药物 …… 97
第一节 巴比妥类药物 …… 98
一、结构与特性 …… 98
二、毒理作用 …… 99
三、检材采取与处理 …… 99
四、检测方法 …… 99
第二节 苯二氮䓬类药物 …… 103
一、结构与特性 …… 103
二、毒理作用 …… 104
三、检材处理 …… 105
四、检测方法 …… 105
第三节 吩噻嗪类药物 …… 108
一、结构与特性 …… 108
二、毒理作用 …… 108
三、检材处理 …… 109
四、检测方法 …… 109
第四节 局部麻醉药 …… 111
一、结构与特性 …… 111
二、毒理作用 …… 112
三、检材处理 …… 112
四、检测方法 …… 112
第五节 抗生素 …… 113
一、结构与特性 …… 113
二、检材处理 …… 114
三、检验方法 …… 114
第六节 氯胺酮 …… 116
一、结构与特性 …… 116
二、检材处理 …… 116
三、检测方法 …… 116
小结 …… 117
Summary …… 117
思考题 …… 117

第七章 杀虫剂及除草剂 …… 119
第一节 杀虫剂 …… 120
一、有机磷杀虫剂 …… 121
二、氨基甲酸酯类杀虫剂 …… 135
三、拟除虫菊酯类杀虫剂 …… 141
四、杀虫双和杀虫脒 …… 145
第二节 除草剂 …… 148
一、百草枯 …… 148
二、五氯酚钠 …… 150
小结 …… 152
Summary …… 152
思考题 …… 153

第八章 杀鼠剂 …… 154
第一节 有机合成杀鼠药 …… 155
一、毒鼠强 …… 155
二、氟乙酰胺和氟乙酸钠 …… 158
三、氟乙酰胺和毒鼠强混合中毒的检测 …… 161
四、抗凝血杀鼠剂 …… 162
第二节 无机磷化物杀鼠剂 …… 166
一、检材处理 …… 167
二、检测方法 …… 168
小结 …… 169
Summary …… 170
思考题 …… 170

第九章 天然药毒物 …… 171
第一节 常见天然药毒物介绍 …… 173
一、有毒植物 …… 173

二、有毒动物 …… 185
第二节 检验方法 …… 188
一、检材及检材处理 …… 188
二、预试验和筛查试验 …… 190
三、鉴别和确证试验 …… 199
小结 …… 210
Summary …… 210
思考题 …… 211

第十章 毒品 …… 212
第一节 概述 …… 213
一、毒品的概念 …… 213
二、毒品的分类 …… 213
三、毒品的危害 …… 214
四、毒品分析的特点 …… 214
第二节 鸦片类 …… 215
一、检材处理 …… 217
二、检测方法 …… 218
第三节 大麻 …… 220
一、检材处理 …… 221
二、检测方法 …… 222
第四节 麦角酰二乙胺 …… 223
一、检材处理 …… 223
二、检测方法 …… 224
第五节 可卡因 …… 224
一、检材处理 …… 225
二、检测方法 …… 226
第六节 苯丙胺类 …… 227
一、检材处理 …… 228
二、检测方法 …… 229
第七节 哌替啶 …… 230
一、检材处理 …… 231
二、检测方法 …… 231
第八节 美沙酮 …… 232
一、检材处理 …… 233
二、检测方法 …… 233
小结 …… 233
Summary …… 234
思考题 …… 234

第十一章 金属毒物 …… 235
第一节 概述 …… 235
一、金属毒物的特点 …… 236
二、Reinsch 试验 …… 236
三、有机质破坏 …… 237
第二节 常见的金属毒物 …… 239
一、砷化合物 …… 239
二、汞化合物 …… 241
三、钡化合物 …… 244
四、铬化合物 …… 245
五、铊化合物 …… 246
小结 …… 246
Summary …… 246
思考题 …… 247

第十二章 水溶性无机毒物 …… 248
第一节 概述 …… 248
第二节 亚硝酸盐 …… 249
一、理化性状 …… 249
二、检材处理 …… 250
三、检测方法 …… 250
第三节 强酸 …… 251
一、性状与特点 …… 251
二、检材处理 …… 252
三、检测方法 …… 252
第四节 强碱 …… 253
一、性状与特点 …… 253
二、检材处理 …… 253
三、检测方法 …… 253
小结 …… 254
Summary …… 254
思考题 …… 254

参考文献 …… 255

第一章 绪论

要 点	
毒物与法医毒物分析	毒物的概念是相对的。物质的毒性大小及能否产生毒性作用和作用的强弱,与物质的性质、剂量、进入机体的方式、机体状态等因素有关。要妥善处理中毒事(案)件,应正确理解毒物的性质、体内过程和中毒症状等方面的知识。法医毒物分析是对涉及和怀疑涉及中毒的事(案)件中的有关物质进行分析研究的学科,法医毒物分析的特点要求毒物分析工作者应有严谨的工作态度、广博的知识素养和熟练的操作技能,并要求详细了解案情,注意检验材料的特殊性,仔细分析,周密计划。
法医毒物分析的工作内容	法医毒物分析工作内容包括:全面、细致地了解中毒事(案)件发生的情况。根据事件经过、中毒表现、尸体解剖所见等寻找毒物分析方向。合理采集、贮存和处理检验材料。拟定正确检验方案,分离提取检材中的毒物并用合适方法进行检验,得出结果,出具正确的鉴定书(检验报告)。为符合实际的中毒法医学鉴定结论提供依据。 质量控制贯穿法医毒物分析的各个环节,包括人员、环境、仪器、设备、实验动物、标准对照品、检材、分析步骤、报告结果和资料归档等内容。
毒物分析发展简史	毒物分析的产生和发展与法医学、化学、药学以及工农业的发展密切相关,经历了从开始认识毒物,逐步发展到定性鉴别和定量检测的过程。仪器分析方法已逐渐成为法医毒物分析的主要手段。
相关主题词	分析化学 药理学 药物学 植物学 动物学 农药 毒品 法医病理学 法医毒理学

第一节 毒物与中毒

一、毒物

关于毒物(poison)的定义,国内外不同时期都不尽相同。有人认为毒物是指所有能够对人体产生伤害的物质;或认为毒物是指小剂量使用就能引起明显生理变化及代谢功能失常的物质;或者定义为在一定条件下通过化学或物理化学作用使机体受到一时或永久性伤害甚至危及生命的物质。其实毒物的概念是发展的和相对的,在对毒物认识的初期,人们仅仅从外观形态上去识别能引起急性中毒的动植物和矿物质。随着长期的生产和生活实践的积累,医学和化学的不断进步,人们的认识水平不断地提高,逐步从通过形态外观识别毒物,发展到通过化学组成和有毒成分认知毒物,并进一步从用量、生物体摄入物质方式以及个体的情况等方面更为准确和清楚地认识毒物。

食物、药物和毒物之间没有明确界限，比如正常用量的食盐是人体所必需的，但如果一次摄入过多便会导致死亡。药物在治疗疾病的同时，会出现一些不良反应或副作用，对人体产生一定的伤害，若使用过量甚至导致中毒死亡；反之，一些传统意义上的剧毒物质在使用恰当时也可是治疗一些顽疾重症的良药，所以有时把药物和毒物统称为“药毒物”。

毒物是指在特定条件下，以一定量和特定方式作用于个体而产生毒害作用的物质。这里所指的毒物不包含寄生虫、微生物和生物体自身产生的毒素。

二、中毒及毒性

（一）中毒

中毒(poisoning)指由毒物引起的病变或死亡。因中毒导致的死亡称为中毒死(death by poisoning)。

毒物所引起的中毒作用称毒性作用(toxic effect)或毒害作用。毒性作用的强弱从病情上分为轻度中毒、重度中毒和中毒死亡。从病程上有急性中毒、亚急性中毒以及重复多次小剂量使用造成的慢性中毒。

许多自杀、他杀、意外造成伤害甚至死亡的事件(或案件)都由中毒引起。近年来，在许多发达国家，投毒谋害的案件已不多见，而服毒自杀的情形却仍然不少；在发展中国家，投毒谋杀的情况和服毒自杀事件仍经常发生。

意外中毒事件涉及的可能是一个或几个个体，如儿童把毒(药)物误当作糖果食用；一家人紧闭门窗烤火取暖，造成一氧化碳中毒。意外中毒事件也可能是大型的群体中毒事件，如 1984 年，印度博帕尔的美国联合碳化物公司农药厂 45 吨甲基异氰酸酯泄漏，造成近 3 000 人死亡，数万人受毒害；1995 年，日本东京发生的地铁遭受毒剂“沙林”袭击事件，约5 000人被送往医院救治；2002 年，我国南京市发生的毒鼠强群体急性中毒事件，造成 300 多人中毒约 40 人死亡。其他还有川东天然气矿“井喷”事故、重庆氯气泄漏事件等。

（二）毒性作用的产生条件和影响因素

一种物质能否产生毒性作用、作用的强弱及作用快慢不仅与物质本身的化学成分有关，也与其用量、进入生物体的途径、进入速度有关。生物体的种属、性别、年龄、体重、健康状况、对毒物的耐受性(tolerance)和敏感性(sensitivity)、是否已有体内蓄积等因素也会影响毒性大小。毒性作用的产生条件和影响因素如下：

1. 毒物的成分　这是毒性作用产生的基本条件，毒性作用强弱与这些成分的存在状态也有关系，典型的例子就是砷和砷化合物的毒性区别，见实例 1-1。

> 实例 1-1：
>
> 砷及砷化物造成中毒的历史已逾千年，虽然都因为砷带来毒性，但由于砷及砷化物中砷的存在状态不同，其毒性差异很大：
>
> 砷，又称为砒，单质砷不溶于水，几乎无毒性；
>
> 三氧化二砷，又称为砒霜，微溶于水，易溶于酸碱，易转化成亚砷酸，毒性作用强；
>
> 二硫化二砷，又称为雄黄，难溶于水，毒性较低。

2. 使用的剂量　剂量是影响毒性作用的主要因素。毒物引起个体中毒的剂量称为中毒量(toxic dose)；造成死亡的剂量称为致死量(lethal dose，LD)。各种物质有其相应的中毒量和致死量，其值越小毒物的毒性作用越强。动物的中毒量、致死量通常是基于实验而得出的统计数据。通常采用小群体的动物急性毒性实验方法，求得某一毒物能引起实验动物全部死亡的最小剂量，称为全

数致死量；引起半数动物死亡的剂量称为半数致死量（LD_{50}）。毒物对人的中毒量和致死量多是从一些实际案例中得到的参考值或推理得到的数据。不能将中毒量和致死量简单地用于判断或推算个体是否是死于中毒。许多人甚至一些法医师和医师都认为物质导致中毒的剂量是一个固定值，超过就会造成中毒甚至导致死亡，这种机械的看法是错误的。

3. 摄入方式（途径和速度） 毒物可通过口服、注射和外用等途径进入人体而产生毒性作用。同一毒物进入生物体的途径、速度不同，可能导致完全不同的结果，比如口服低浓度的氯化钾溶液可起到补钾的作用，但如果快速静脉注射就可能造成死亡。一般而言，通过口服途径进入，毒性作用与毒物的吸收特性有关；通过注射途径进入产生的毒性作用速度快，但也与毒物的吸收分布特性有关；通过外用途径进入，毒性作用产生的速度较慢。不过，常会引起迟发性毒性作用。如果皮肤有伤口时毒性作用会加快。

4. 个体情况

（1）个体的种属、性别、年龄、体重及健康状况不同，同一毒物，同样的用法和用量产生的毒性作用会有差别。

（2）个体对物质的敏感性和耐受性也是物质产生毒性作用强弱的影响因素。对于个体而言，当再次使用同样剂量已无法达到原有效果，必须增加剂量时，说明个体对该物质产生了耐受性。当个体产生了耐受性，血液和组织内含有的毒物虽达到了常人致死量，但机体可能还不会出现本应出现的症状。而有些对特定毒物的敏感性高于常人的个体，使用极小剂量的物质就能发生很强的反应。比如下面的敏感性和耐受性差异实例（实例 1－2）。运用中毒量和致死量作为判断依据时，必须考虑到个体的敏感性和耐受性。

敏感性和耐受性差异实例（实例1－2）：

某男，在第一次注射海洛因时就中毒死亡，死时甚至针头还没有拔出。而劝说他使用海洛因的“毒友”却每次需要使用数倍量的该物质，才能产生欣快感。

（3）一些个体是过敏体质，一旦使用或接触到正常治疗量的药物就可造成死亡。这时的药物对个体而言即可产生极强的毒性作用。

另外，遗传因素、体内已有蓄积或者其他原因也会影响毒性作用的大小。

三、毒物分类

为了方便地说明毒物的问题，可根据理化性质、毒理作用或其他原则（方式）将毒物进行分类。根据结构和理化性质，毒物大致分为挥发性毒物、气体毒物、水溶性毒物、非挥发性有机毒物和金属毒物等；根据毒理作用分为腐蚀性毒物、刺激毒物、实质毒物、酶抑制毒物、血液毒物、神经毒物等；按来源、用途及应用范围分为有毒植物、有毒动物、农药、杀鼠药、药用毒物、工业毒物、军事毒物等。其实各种分类的方式都存在一定的局限性，尤其是随着对毒物认识的提高，就发现以前的分类存在偏差，而且单纯根据某一原则分类，也很难把问题说清楚。

随着工农业的发展，毒物的范围越来越大，毒物的种类也不断地增加。因此毒物的分类是相对的，也是不断发展变化的。本书对毒物大致按如下综合分类。

1. 挥发性毒物 如氰化物、乙醇、甲醇、甲醛、氯仿与水合氯醛、苯酚与煤酚、苯胺与硝基苯等。

2. 气体毒物 如一氧化碳、硫化氢等。

3. 医用合成药物 如巴比妥类、苯二氮䓬类、吩噻嗪类等。

4. 杀虫药 如有机磷酸酯类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类等。

5. 除草剂　如百草枯等。

6. 杀鼠药　如磷化锌、氟乙酰胺、毒鼠强、香豆素类、茚二酮类等。

7. 天然药毒物　如乌头类、马钱子、颠茄类、斑蝥等。

8. 毒品　如罂粟、鸦片、可卡因、大麻、苯丙胺类、吗啡等。

9. 金属毒物　如砷、汞、铅、钡等及其化合物。

10. 水溶性无机毒物　如强酸类、强碱类、亚硝酸盐等。

四、毒物体内过程

毒物在体内一般要经过吸收(absorption)、分布(distribution)、代谢(metabolism)和排泄(excretion)四个过程,这些过程通常有其规律。处理中毒案(事)件,要正确了解毒物在体内的这些过程和中毒的发生、发展及结果。值得注意的是如果个体反复使用某物质已形成瘾癖,该物质的体内过程及代谢规律就可能发生改变,不同于一般情况。

毒物可通过多种途径和方式进入机体,大多数是经消化道,也有经呼吸道吸入的,注射是另一种常见途径,如硫酸就曾被罪犯用来注射到受害人头皮下致人死亡。还有罪犯将农药、重金属毒物或氰化物塞入被害人阴道达到犯罪目的。

毒物吸收是指毒物穿透生物膜或膜屏障进入血液循环的过程。吸收快慢与吸收途径、毒物的 pK_a 值、机体的状态(如胃肠道pH、肺活量、皮肤黏膜完整性等)、是否佐以含乙醇饮料、性别及个体体质等因素有关。

毒物吸收进入血液和体液后,在体内随着血液循环很快分散到全身各处的过程称为分布。毒物在机体内的分布并不是完全均匀的,其分布情况取决于毒物的脂溶性、与脏器组织的亲和力及组织的血流量。各种毒物的分布有其相应的规律。比如,一氧化碳与血红蛋白具有高度亲和力,而砷积蓄于肾、骨骼、指甲等。近年来不少研究发现有些毒物还存在死后再分布的现象。这些分布特征对于选择何种检验材料供法医毒物分析有指导意义,对评价分析结果也有所帮助。

毒物进入机体后,经细胞和组织内酶的作用,会发生氧化、还原、水解或结合等生物转化过程,这就是毒物在体内的代谢,代谢生成的产物,称为代谢物(metabolin)。几种代谢方式中,氧化是最普遍的一种,如乙醇氧化成乙醛并进一步氧化成为乙酸,乙酸最后氧化成为二氧化碳和水;而带有硝基和羰基的毒物易发生还原反应,如含硝基的农药对硫磷还原成氨基对硫磷;具有酯键或酰胺键的毒物在体内酯酶等的作用下发生水解,如乌头碱水解生成乌头原碱、苯甲酸及乙酸。而有些毒物与体内的葡萄糖醛酸等结合生成极性更强、水溶性更大的结合物,如吗啡可与葡萄糖醛酸结合成吗啡-葡萄糖醛酸苷。大多数毒物经过生物转化后,毒性随之降低,也有经过这个过程后,毒性反而增加。如果由于各种原因检测原药困难,也可检测代谢物。

毒物排泄的速度及程度与毒物溶解度、挥发性、组织中蓄积的程度、排泄器官的功能状态等有关系。多数毒物进入机体后,会较快地排出,毒物排出机体的途径主要是经肾,所以大部分毒物的原药和代谢物都能从尿中检出,毒物也可经胆汁、乳汁、汗液和呼吸道排出。

五、中毒症状

毒物作用于机体,机体会有中毒表现,通常被称为中毒症状。症状通常会表现在全身各系统,如消化系统的恶心、呕吐、腹泻等;或神经系统的头晕、头痛、全身无力、抽搐等;或呼吸系统的呼吸困难、气急等。有些毒物中毒还会表现出特殊的症状,表1-1给出了一些中毒症状及其可能涉及的毒物的例子。这些症状能为中毒鉴定提供有用的信息,同时也能给检验工作提供可能的毒物范围,使检验工作有更强的针对性。



表 1-1 中毒症状及可能涉及的毒物

中毒症状	毒物
颜面樱红	氰化物、一氧化碳
颜面潮红	阿托品、河豚
颜面口唇青紫	亚硝酸盐、苯胺、硝基苯、安眠镇静药
血液正常，不凝固	抗凝血杀鼠剂
血液鲜红，不凝固	氰化物、一氧化碳
血呈酱色，不凝固	亚硝酸盐、苯胺、硝基苯
呼吸浅慢	安眠镇静药、吗啡、阿片、一氧化碳
肺水肿	有机磷、百草枯、刺激性气体
心跳加剧、心律紊乱	强心苷类、氨茶碱、蟾蜍、苯丙胺、氟乙酰胺
流涎、口鼻冒白沫	有机磷、有机氟、拟除虫菊酯、乌头、氨基甲酸酯
剧烈腹痛	酚、砷、汞、强酸、强碱、钩吻、磷化锌、巴豆、斑蝥、河豚
口渴	磷化锌、砷
剧烈呕吐与腹泻	砷、汞、巴豆、桐油、蓖麻、
血尿、尿闭	汞、斑蝥、蓖麻、抗凝血杀鼠剂、百草枯
闪电样昏倒迅速死亡	氰化物、烟碱
昏睡	安眠镇静药类、麻醉药、一氧化碳
痉挛、强直性痉挛	氰化物、有机磷、氟乙酰胺、士的宁、毒鼠强
幻觉	颠茄、曼陀罗、大麻、麦角酰二乙胺、抗抑郁药
口唇、四肢发麻	乌头、河豚、蟾蜍、大麻
视觉障碍、复视、失明	甲醇、钩吻
瞳孔改变	有机磷、吗啡、阿片、颠茄类、麦角酰二乙胺、古柯碱、大麻、奎宁
大量出汗	有机磷、氨基甲酸酯
体温升高	有机磷、阿托品、五氯酚钠
皮肤发红、起疱	斑蝥、巴豆、强酸

值得注意的是，有些症状为多种毒物所共有，有些则是少数所特有的。而且有些症状与疾病发作时所产生的症状相类似，这给临床根据症状做出诊断增添了许多困难。只有少数情况下能够单凭中毒症状判断受检人是否中毒以及何种毒物中毒，而大多数情况除了注意上述特征外，还应进行毒物分析，并结合各方面情况得出结论。

第二节 毒物分析

一、毒物分析的定义

毒物分析(toxicological analysis)的定义有许多，有人认为毒物分析是对能损害正常生命活动的毒物进行定性和定量分析的一门应用学科；也有人认为毒物分析是指对中毒事(案)件中涉及和怀疑涉及的物质进行定性检识和定量检测的学科；较全面的定义为毒物分析是应用化学、药学、医学等学科的现代科学理论、技术和方法对危害人类健康的化学物质进行分析研究的一门应用科学。属于分析化学的一门分支学科，多数情况下是微量分析或痕量分析。

毒物分析应用到各个不同的领域，依据分析目的的不同，大致可分为预防性毒物分析与突发性毒物分析。预防性毒物分析主要是指药品杂质分析、农药残留分析、环境监测、劳动保护、饮食物管理等领域的分析工

作，分析工作有常规的程序，属于常规毒物分析。而突发性毒物分析，是针对非正常情况下发生的中毒事件而言，涉及的领域有自然灾害、战争毒气、临床急救、生活疏漏、职业过失、自杀或他杀中毒事件，分析工作没有固定的程序，属于非常规毒物分析。法医毒物分析(forensic toxicological analysis)属于突发性毒物分析，主要是对涉及或怀疑涉及由毒物引起的伤害或死亡事(案)件中的有关物质进行分析鉴定。

二、法医毒物分析的任务

法医毒物分析的任务是对中毒事(案)件中可能有关的毒物进行分析研究，判明是否存在毒物及其与事件的关系，为澄清当事人在事(案)件中是否负有法律责任提供依据，为涉及毒物的违法案件提供侦破线索和犯罪证据。法医毒物分析工作通常会涉及如下事(案)件(见要点1-1)：

涉及范围(要点1-1)：
死因不明确但怀疑有中毒情节。
疑为自杀，有必要证明系服毒。
投毒谋杀。
麻醉抢劫、强奸、拐骗、施暴等。
吸毒、制毒、贩毒。
酒后驾车。
生活意外。
职业过失。
其他与毒物有关的事件或案件。

三、法医毒物分析的特点

由于在涉及的中毒事(案)件中，每一个事(案)件的发生、发展和结果都不会是一个固定模式，这使得毒物分析不同于其他一些具有指定检验目的物和规定分析方法的常规分析。除了具有一般分析化学的特点外，法医毒物分析工作还具有如下特点。

1. 分析目的的不确定性　由于要分析的目的物是何种甚至是何类毒物往往事先并不知道，法医毒物分析多属于探查性质的检验工作。有如下可能的情况(要点1-2)会造成分析目的的不明确，甚至使得检验工作成为一种具有探索性质和研究性质的工作，检验时必须详细了解全部案情，周密分析，排除假象，充分考虑后对可能涉及的毒物进行分离和鉴别，并根据需要考虑是否进行含量测定，以免造成漏检。往往要到最后揭露出案件真相，才能验证分析目的是否正确。

可能情况(要点1-2)：

投毒、制毒、贩毒等犯罪嫌疑人为逃避法律制裁，常蓄意掩盖事实经过，甚至制造假相，毁灭罪证。

真正自杀者，一般不希望他人了解自己的企图，现场不一定能找到明确的检验线索。

误食或发生意外的当事人，一般事先不能预料后果，事后也未必能确知中毒原因。

职业过失的当事人，常在事发后畏罪而加以掩饰，以逃避责任。

尽管有的分析目的相对明确，所做工作只是验证性质的分析，但有时也可能带有探查性质或在分析的过程中转变成探查性质。

2. 检材的特殊性　毒物分析所用的检验材料简称检材(specimen)。检材的特殊性包括检材的多样性和一次性。法医毒物分析的检材，其种类多种多样，可能是现场收集的可疑物、药品、毒饵、可疑容器、呕吐物等，也可能是取自活体或尸体的血、尿、肝、肾、玻璃体、脑脊液、腐泥等。因此所谓多样性既意味着有检材种类的多样性，组成的多样性，也有检材量的多样性。检材的一次性一方面是指检验材料一旦用尽，不可复取；另一方面指检

材经有些方法分析后化学成分会被破坏不可再用。检材的一次性要求法医毒物分析工作必须具有详细周密的计划。

3. 分析方法的应变性　所谓分析方法的应变性是指由于案件不同或案情明确程度不一，要求分析的目的及选用的分析方法就不同；即使案件情况类似，涉及案件的检材状况不相同，采用的分析方法也会不一样；加上各实验室具备的仪器设备条件差别等原因，工作中应根据实际情况作相应变通，不能完全照搬现成的方法。另一方面，在分析目的不完全确定的情况下，不能采用只针对某一种毒物的分析方法，应采用适应范围较宽、且能做出相应变通的方法，以适应随着案情变化或检验过程发现的问题。

4. 工作的严谨性　法医毒物分析的检验结果和鉴定结论是证明事件真实情况的证据之一，检验人和鉴定人是诉讼参与人之一，对检验结果和鉴定结论负有法律责任，因此，工作人员必须要有严肃的工作态度和严谨的科学作风，鉴定结论必须经过严密的科学论证。

5. 涉及范围的多学科性　法医毒物分析既是一门专业性较强的学科，又是一门涉及和包含多种学科知识的学科。要求工作者有广博的知识，既要熟悉案发地的风土人情、人文习惯等，还要熟悉疑犯的心理规律及犯罪行为特点等，更要掌握毒物的性状、作用机制、中毒改变、现代科学的理论与技术及与中毒相关的其他学科知识。

第三节　法医毒物分析工作内容

在涉及中毒的事件或案件中，要回答事(案)件中有关中毒的问题，得到符合事实的中毒鉴定和中毒诊断，法医毒物分析工作应包括以下几方面内容。尽管有些工作并非由毒物分析工作者实施。

一、情况调查

(一) 一般情况

最先接触中毒者和现场的医生、法医及警察，如果认为需要进行毒物分析并提出这一要求时，应该全面了解事件发生前后的所有情况：①事件发现或发生的始末(时间、地点、过程等)；②中毒表现及症状；③中毒者与家属及有关人员的情况(包括年龄、性别、民族、职业、健康、嗜好、习性及药物过敏史等)；④事发现场是否进行过抢救或其他处理。

> 注意事项：
>
> 1. 辨识和保留现场的可疑物品确保这些物品在必要时可供检验。
>
> 2. 提醒医院或医师在实施医疗急救时，如果欲收集洗胃液，应避免用含有高锰酸钾之类物质的溶液洗胃。特别需要注意的是留存最开始的洗胃液供作毒物分析。
>
> 3. 当有死亡发生时，应全力配合警察进行调查。并请医师全面提供有关死者用药史、疾病史及救治过程的材料，列出其近日服用的所有药物清单。

(二) 尸体解剖情况

对怀疑中毒死亡者，或有中毒可能但因其他原因死亡者，均应进行全面系统的尸体解剖。解剖前应做好充分准备，如洗净、晾干解剖台；准备各种解剖器械、手套等；注意解剖用具不要沾染消毒液，避免用水冲洗；收集检材的容器也切勿用水冲洗。

尸体解剖时，首先应观察尸体的衣着情况及尸体的外表征象。主要是指死者衣着上是否有流注痕、呕吐物、分泌物和排泄物；死者皮肤是否有损伤、针孔或腐蚀痕迹，尸斑颜色有无异常等。解剖进行时，注意死者口鼻

有无特殊气味，比如氰化物、硝基苯中毒有杏仁味，有机磷、磷化锌中毒有蒜臭味。观察血液颜色及局部腐蚀等现象，一般而言，大剂量急性中毒死者，尸检往往仅见肝、肾、脑等器官淤血而无特征性的病理改变；而大剂量急性中毒又表现出病程迁延或多次小剂量服毒致死的患者尸检则可观察到一些明显的病理改变。表1-2列举了部分导致胃肠、肝、肾、心脏、中枢神经系统等发生改变的需要重点查验的毒物。

表1-2 部分器官系统改变要点及需要查验的毒物

器官系统	改变要点	需要查验的毒物
胃肠	胃黏膜及内容物附有灰黑色颗粒	磷化锌
	胃黏膜腐蚀坏死	强酸、强碱、酚等腐蚀性毒物
肝	肝细胞变性甚至中毒性肝坏死	
	肝小叶中央区肝细胞变性坏死	砷化物、四氯化碳等
	肝小叶外围带出血坏死	磷化锌
肾	中毒性肾病(不同毒物引起的损伤部位不同)	
	近端肾小管的损伤	汞
	肾小管上皮明显脂肪变性	四氯化碳
	近曲肾小管上皮细胞出现核内嗜酸性包涵体	铅
	血红蛋白尿性肾病	砷化氢
心脏及血液	心肌细胞混浊、肿胀及脂肪变性、心肌炎	砷化物、磷化锌、有机汞、乙醇
	血液颜色	
	血液呈樱红色	一氧化碳中毒
	鲜红色	氰化物
	血液呈暗褐色	亚硝酸钠、氯酸钾
肺	肺水肿、肺炎	刺激性气体如二氧化硫、汞蒸气
		百草枯
中枢神经系统	蛛网膜下腔及脑内小血管充血、脑水肿、中毒性脑病	铅、汞、乙醇、巴比妥类药物

除了尸体剖验可以见到的征象而外，各器官组织的组织学检查所发现的改变也为明确需要重点考虑哪些毒物提供线索。

送检时要提供全部了解到的情况，并会同有关专家共同分析、探讨事件是否与毒物有关、可能涉及哪些毒物、要求毒物分析解决哪些问题、进行检验的可能性、估计能得到的检验结果及其对法医学鉴定的意义等。

二、检材采集、包装、贮存和运送

检材是澄清事件真相和查清案件性质最重要的物证之一。妥善进行检材的采集、包装、贮存和运送对得到客观的检验结果及符合事实的法医学鉴定结论有重要意义，因此必须慎重对待。

采集、包装、贮存和运送检材根据检验的范围和目的、分析工作的要求不同而不同，怀疑涉及毒物的种类不同，需要采集的检材类别就不同，对相应检材的包装、贮存和运送的要求也就不同。如果分析目的不明确时，采集检材应考虑全面，尽量采集全部可能的检材。

检材必须绝对真实可靠，严防混淆和错乱，绝不容许更换替代。必须按照一定的要求采集检材并注意如下要点1-3。供作组织学检验的检材常常需要用甲醛溶液浸泡固

定，而用作毒物分析的检材，却不允许在其中添加防腐剂。尸体解剖时应在用甲醛固定之前采取用作毒物分析的检材。

要点 1－3：

用作毒物分析的检材，一般不允许在其中添加任何防腐剂，因为这样会妨碍很多毒物的检测，甚至无法检测。

采集和处置常用毒物分析检材有相应的要求和注意事项，列举如下。

1. 现场勘查或侦查工作中发现的检材，如剩余饮食物、药物、中草药渣，可能盛装或包裹过毒物的容器、纸张，使用过的注射器等，一般应全部搜集。在采集可能被呕吐物或排泄物等浸染的土壤、食物、衣着床褥等物时，应同时采取未被浸染的相应部分供作对比。遇有较大宗可疑食品或食物原料等时，应在不同部位地点采取适量检材并分别记明。如图 1－1 所示某现场的杯、瓶、餐具及剩余的液体，应全部采取并分别包装、标注。



图 1－1　某现场的检材

2. 血液　血液中毒物浓度可反映毒性作用强度，是毒物分析的主要检材。根据需要可采用全血、血浆和血清。使用最多的是全血，尸解时应同时采集心血和外周血。从正确部位采取血样是很重要的。体腔内的血液由于容易被肠内溢出物、尿液、粪便等污染，取样时要慎重对待。血样也不宜从心脏及胸腔大血管采集，因为死后由胃渗透出的药物会对其造成污染。比如生前饮用的乙醇在死后会弥散至心脏和大血管，所以该部位取血的分析结果将得到不准确的血醇浓度。而一氧化碳中毒，应从深部血管取血。对于大多数分析，为了检验及留样要求，应采集足够数量的血液，为防止发生凝血，可加入少许抗凝剂，如肝素、乙二胺四乙酸二钠等，并在送检时说明是否加了抗凝剂及其种类。

3. 呕吐物和胃内容物　通常全部取用。有时会遇到无胃内容物的空胃，采取胃壁组织对分析检验就很重要。如果胃壁黏膜上附有粉末和未溶解的药片，应单独收集，因为这些未溶解物可能会有很高的药物浓度。

4. 肝脏、胆汁和其他脏器　肝脏对许多药物有积蓄作用，是常用的检材。当血液或尿液中的药物浓度过低而无法检出时，肝脏内的药物浓度有时却可达到检测方法的要求。有时为检测氯丙嗪和吗啡等的含量，还常常采取胆汁送检。对于吸食过量滥用溶剂而死亡的人，虽然其体内血液能间接反映出该死者死前吸食情况，但提取整个肺部以检测其气体含量有助于直接、准确地判断死因。采集样本时应迅速将肺从尸体内取出并装入密封袋内，袋口需扎紧以防止气体逸出。

5. 尿液　毒物主要通过尿液排泄，以原形、缀合物或代谢物的形式存在。尿液采集相对容易，是很有价值的检材，也是毒物动力学及毒物代谢研究工作所感兴趣的样品。采集尿样的量一般为 20～30 mL。

6. 粪便　粪便一般不作为分析的样本，但在一些怀疑为重金属中毒（如砷、汞或铅中毒）的事件中需采集受检人粪便送检分析。采样量为 20～30 g，应分段收集。

7. 毛发和指甲　一般是重金属中毒采集的样本，因为重金属易沉积在毛发和指甲的角蛋白上。由于药物滥用个体多是长期、反复用药，药物进入毛发并积累，因此对滥用药物的分析，毛发是重要检材。毛发不同部位毒物的含量不同，靠近毛发根部的药物浓

度最能反映近期体内的药物浓度水平。与毒物分析传统的生物检材相比，毛发具有易获取、稳定、易保存及检出时限长等优点，故分析结果可作为判断曾经是否有滥用行为的辅助认定证据。

8. 尸体腐泥 在开棺检验的情况下，采集已腐脏器或所在部位的腐泥时，应同时采集可能污染尸体的装殓物品和周围不受腐尸浸染的棺木泥土等，详细记录采集处所等有关情况，以供检验中对照核查。

采集的检材应该逐件分别用大小合适的洁净容器或适用的包装物装盛，贴上标签或辨别标志并密封。所用标签应分别注明：检材名称、来源、数量、采取日期、时间、地点、采取人等，并应有负责的封签。

采集、包装完毕的检材应及时送检，对于不能及时送检的检材应采取冷藏等办法防止腐败变质，此期间应有明确的传送或保存的责任人。

所有检材需由专人运送至实验室。全部送验检材应由负责送检者逐一列出检材清单，并加以必要的说明。检材到达实验室，由专人接收，并记录运送人、运送时间及检材性质等。必须重视运送程序中的每一环节，因为任何疏忽都可能成为法庭上的证据，特别是辩方律师对这些环节提出异议时。

三、法医毒物分析工作程序

毒物分析工作要求细致周密，分析方案切实可行，分析方法科学合理，分析结果准确可靠。

1. 接受任务 在接受毒物鉴定或毒物检验任务时，应仔细向送检人员询问有关现场勘察情况、侦查中的发现尤其是与要求检验毒物有关的情况和事实依据。必要时应协同侦查人员亲自进行勘验，充分掌握医生诊断意见，询问法医所见到的尸体外观，进一步了解尸体解剖发现的情况和病理检验所得到的结果。在毒物分析进行的过程中，有时由于发现了一些尚未预料到的线索时，还需要提出补充调查的意见和要求。

2. 收受检材 检验人员收受检材的时候必须明确有关的责任关系，完备委托书等送检手续，登记案件编号、送检日期、送检单位、送检人、简要案情、检材情况(种类、数量、包装、新鲜程度等)并对检材进行审核和签收。

3. 制定检验方案 检验方向是指进行检材的分析检验时，全面考虑应该检验哪些毒物和是否需要定量，据此制定检验方案。

(1) 明确检验方向 要判明检验方向，需要根据了解到的案件情况、检材疑点(形状、色泽、气味、酸碱性或有无可疑的夹杂物等)，与送检者讨论检验方向。对于不合理或不可能实施的检验要求，应进行科学的解释。若一时不能提出明确的检验方向，可要求补充收集可能被遗漏的材料后再议。对所有可能的毒物，应分别根据各种毒物的性状及其在活体与尸体中的分布与代谢情况考虑检测的可能性。当技术力量或设备条件受到限制，无法胜任检验任务时，应及时说明并尽可能提出妥善的处理意见。如不能从上述情况中找到方向，就需要逐一筛查。

(2) 确定待检毒物 制定检验方案时，应考虑所有可能涉及的毒物，并用科学有效的分析方法和手段加以确认，这是制定正确检验方案的基础。对于可能要排除的毒物，必须要有充分可靠的事实和科学依据，不能单凭某些偶然现象或疑点就加以排除，更不能凭个人经验或主观想像随意地排除。如氰化钠中毒死亡，一般发生在毒物进入体内后的较短时间内。案情中若是投毒数天后死亡，而从中毒到死亡期间确实证明绝无再次接触毒物的可能时，才能排除氰化物；根据侦查的充分事实分析，证实某些毒物绝不可能与本次事件有关时，也可排除。但有一些情形还不能作为排除毒物的必要条件，如因尸体瞳孔散大而就此排除吗啡，现场发现农药

而仅据此排除其他毒物的可能性，某些凶杀案虽已经法医鉴定外伤是致死原因，若案情有涉及使用毒物的疑点时，也不能因已鉴定死因而排除中毒等。

(3) 根据分析目的的明确程度、检材性状、毒物性质、含量高低、检验要求、可用的仪器设备和方法、方法的应变性等制定检验方案。检验方案包括取哪些检材、取多少检材、如何分离提取、如何预试和筛选、用何种方法定性和定量等。

4. 检材处置　在正式进行检验之前，必须认真负责地处置检材。主要包括检材的描述、称量、标记、留样及选用。

(1) 描述、称量、标记　所接收的每一件检材必须进行称量，作适当描述(比如气味、颜色、形态、酸碱性等)，并记录。在检验过程中所使用的容器、每一操作过程进行中或结束后得到的留存物、弃去物及供试物等都应有标记，至检验工作完全结束后，方可弃去。弃去时也应标记清楚并注意弃置于指定地点或做妥善处理，不可随意丢弃。

(2) 留样及选用　进行分析检测前，应按原状分取一部分加标签编号妥善封装冷藏保存，用作复验审核的材料，在条件不许可保留时，应事先声明并征得送检方的同意。分取作为留用的检验材料一般不少于总量的三分之一。用作分析的检材在分析过程中应依据分析目的、检材性状、检验要求、可用的仪器设备和方法等，有计划地合理取用，避免不恰当的消耗。在可能条件下，应尽量多保留剩余检材。

不同的检材，不能随意混合。即使是种类相同而来源或采取地方不同的，也不应混合。例如非同一时间采取的尿液，非同一部位、地点采取的可疑含毒检材，不应视为相同检材加以混合。

对于很不均匀的检材，如有液体和固体或沉淀并存的、不混溶液体(如油和水)并存的、半固体状或固体块状物中成色有明显差异的，原则上应将此类检材分作多件检材来对待。

对表观均匀无异物的粉末或细颗粒状的同一检材，应充分混匀后分取。形状、大小等外貌各异而混杂在一起的检材，如不同药物混装于一瓶、多种药材的中草药渣，应分别挑选其中各组分适量，再分别进行检测。

如果有多种检材，应该考虑先取哪一种检材。一般说来，疑点最多或含毒可能性最大的先做；从中得到线索可能性大的先做；估计欲检测物含量较多的先做；检验工作较易着手的先做；检材量大的先做等。

对明确指定毒物的确证性检验，有时可分取几种检材的一部分分别进行检验。每次分取供检验用的部分检材，就其外观状态、组成情况、均匀程度等各方面，都应尽可能做到与同一件检材的原有性状相同，这样才能以其检验结果代表所取检材的全部情况。

5. 检材的分离净化　为了便于用分析方法进行鉴别和测定，需要将待检毒物从检材中分离出来。根据可能涉及的毒物种类不同，可以采用相应的分离净化方法，比如针对挥发性毒物的分离方法主要采用蒸馏法、微量扩散法；而非挥发性有机毒物的分离方法多用液-液萃取法、改良 Stas-Otto 法等。从检材中分离各类毒物的有关方法及其应用，后面将作详细介绍。

6. 分析检验　常用的毒物分析方法有形态学方法(morphological method)、动物试验法(animal test)、化学分析法(chemical analysis)、免疫分析法(immunoassay)和仪器分析法(instrumental analysis)。仪器分析法又包括光谱分析法(spectral analysis)、色谱分析法(chromatography analysis)、质谱分析法(mass spectrometry, MS)及仪器联用分析法等。

进行毒物检验工作，不但应有熟练可靠的知识技能，更需有严密的科学思维。

检验时根据检验方案，结合检材性状、毒

物性质和实验条件，拟定切实可行的实验方案，其中包括实验方法、实验步骤和实验进度等。由于法医毒物分析工作的特殊性，在分析检材时，应注意以下几方面的问题。

由于毒案的实际发生情形是千差万别的，可能是各种毒物混于各种可疑物品中，所以需要毒物分析工作者具有相关学科的丰富知识，采取的检验手段也不能一成不变。

首先从毒物含量高的检材着手进行逐步筛选、排查和确证。实验过程中，随时记录预期的实验结果及发现的新现象，根据现象分析讨论、修正实验，防止漏检。检验过程中检材、溶剂和废液不能随意倾倒，在检验工作结束后，应妥善处理。

检材的定性鉴别与定量检测相结合。应用适当的定性方法，鉴别检材中有无毒物，是何类毒物，逐步缩小范围，明确检验方向；在此基础上，选择适当的定量分析方法，测定检材的毒物含量等。最后得出分析结果和检验结论。

严格规范检验过程：法医毒物分析工作应有严格的操作规范和检验程序，防止出现差错。对检验过程中出现的异常现象，应认真对待、仔细分析、反复验证，必要时对实验方案进行审查、修改、完善。

对检验方案和相关情况，包括进度、现象、结果、疑点等，除可向本案查办人员提供某些必要的说明外，应严格保密；检验过程中，除检验工作人员外，其他任何人员不得随意进入检验场所，不得干预检验工作的实施。与案件当事人有亲缘关系或与案件有牵连的人都应该回避，不能参与或过问检验工作。检验工作结束后，应按法定程序向送验者出具报告，不可将检验结果和相关情况向外宣扬。

7. 毒物分析检验记录与鉴定书　所有送请检验或鉴定的事件都应建立检验档案，按规则编号，将检验过程的全部文字材料、图片及能保存的实验结果归档保存备查。

(1) 检验记录　检验记录是结论的依据，应自始至终地记录全部过程。即从接受任务开始到终结的全部过程。包括上面提到的全部案情描述、有关的责任关系、检材的情况、分析方案的拟定和实施、所用检验方法、所用的仪器型号、标准品(对照品)的来源、溶剂的厂家和规格、操作步骤、现象和结果、工作中的失误、新的发现、检验人的思维活动等。记录要求详细、真实、完整。

(2) 鉴定书和检验报告　鉴定书是作为证据的正式法律文件，对一些查证死因的案件，通常由法医出具鉴定书，毒物分析人员一般只向法医出具毒物检验报告。鉴定书和检验报告是证据之一，应以原始记录所记载的事实为依据。其内容通常包括案件编号、送检日期、送检单位、送检目的、送检人、简要案情、检材情况(种类、数量、包装、新鲜程度等)、检验方法和结果、鉴定或检验结论、鉴定或检验日期、鉴定人或检验人及单位、报告日期、剩余检材处理等。鉴定书及检验报告要求客观，用词简练准确、结论依据充分。

四、检验结果的判断及质量控制

(一) 检验结果的判断及运用

法医毒物分析结果是判断是否中毒或中毒死亡的重要依据，在中毒的法医学鉴定中起着重要作用。

在保证试剂、操作无误，检验过程也无干扰的条件下，如果检验的结果是阳性，说明检材含有被检测的毒物，且其含量高于方法检测限。依据阳性结果要做出中毒的法医学鉴定结论时应考虑下列可能的情况：受检者是否在治疗用药期间，其工作或生活环境是否可能接触到毒物，或者有些物质是否会因腐败产生，或者由于检材处置不当，被污染产生的假阳性。

如果结果是阴性，说明检材中不含被测毒物或其中毒物浓度低于所用方法的检测限。运用阴性结果进行判断时应注意到下列可能性：因检材保存或处置不当，毒物已经分

解变化；毒物的中毒剂量小、性质又不稳定或者代谢排泄很快，无法检测。

对于毒性大且非人体所含成分，体内检材的阳性结果，可结合案情和解剖病理所见等情况作为中毒鉴定的依据，含量检测不是必需的。而对于可能系正常用药或属于自然界普遍存在的物质，含量测定对判断是否中毒非常重要。当需要进行含量检测时，选用适当的方法测得单位检材中所含毒物的量即为含量结果，对定量结果的应用应结合案（事）件的调查结果等各方面的情况综合分析，作出判断。

一般说来，简单地根据血液或尿液的药毒物浓度数据来估计或推算个体摄入药毒物的量及摄入的时刻是比较困难的，因为药毒物复杂的体内过程和个体差异等原因，使这种推测的结果只能作为参考。尽管有些情况下必须推测出一个结果来判断案件的性质，推测的答案也常常用于协助法官判定案（事）件中药物的用量是一种治疗用量还是蓄意给予的大剂量。例如，在调查一起死亡事件中判断死者生前是否过量服用药物时，欲根据送检血样中药物 A 的浓度（x mg/L）推测服用总量，就会有如下疑问：①从服用药物到死亡经过了多少时间？②这种药物可以被完全吸收吗？③吸收率如何？④消除率如何？⑤药物的消除率在浓度降低时还能保持吗？⑥这种药物在体液、组织中分布情况如何？⑦个体是否对该药物存在个体差异等，但要准确回答上述问题常常比较困难。

（二）法医毒物分析的质量控制

法医毒物分析工作所出具的检验结果或鉴定结论必须科学、公正和权威，而毒物分析工作检材复杂，操作步骤多，容易使分析结果产生误差，因此进行质量控制（quality control），保证结果的准确性十分重要。

进行质量控制应该评价所选择的分离净化方法的效能及分析方法的灵敏度、准确性、专属性、检测范围线性及耐用性等。有关方法的验证，将在第三章中详细阐述。

另一方面，质量控制目标的实现还需要对实施毒物分析工作的实验室进行规范化的管理，建立技术和质量管理体系，并实施有效的控制。

这些规范化的质量管理体系应贯穿毒物分析实验室接收和实施毒物检测的各个环节，包括：①人员的综合素质；②环境设施条件；③仪器设备验收、使用、维护、降级及报废处理制度；④合格的实验动物；⑤合格的标准对照品；⑥分析步骤；⑦检材的采集及保护；⑧报告结果和资料归档等内容。最终的检验报告和鉴定结果应有质量控制专职人员进行质量分析和核查。国际标准化组织（International Standard Organization，ISO）对行业实验室提出了国际化的认可准则。1991 年法庭毒物学协会（Society of Forensic Toxicology，SOFT）和美国法庭科学学会（American Association of Forensic Science，AAFS）曾共同发布了《法庭毒物学实验室准则》（Forensic Toxicology Laboratory Guidelines）。2002 年又在该准则基础上进行了修改和完善，为毒物分析实验室的规范化提供了技术和管理要求。中国实验室国家认可委员会（China National accreditation board for laboratory，CNAL）也对有关行业实验室进行国际化认可发布了相应的准则，如国际标准化组织和国际电工委员会认可的《测试和校准实验室认可准则 ISO/IEC17025 标准（CNAL/AC01：2003）》。该准则对毒物分析实验室的规范化也提供管理要求的参考。有关实验室规范管理和质量控制建设的框架、要求、实施的细节可参考相关专著。

第四节　毒物分析发展简史

毒物分析的产生和发展与法医学及其他自然科学的历史和发展密切相关，其他学科

为中毒的法医学鉴定提供了重要的技术手段。在此对国内外毒物分析的历史和发展过程作简要介绍。

一、国外简史

(一) 早期毒物分析(8 世纪—19 世纪末)

公元 8 世纪，阿拉伯的 Geber(又称 Jabir)用砷制成了白色无味无臭的粉末三氧化二砷(砒霜)，在之后的几个世纪，砒霜成为主要的毒物，称为“毒中之毒”，当时人们不能检测砒霜。

现代毒物分析始于欧洲，18 世纪末产生了化学、有机化学，毒物分析才有了科学基础，对于用毒物进行犯罪的案件，逐渐有了科学的检验方法。

1775 年瑞典化学家 Karl Wilhelm Scheele(1742—1786)发现了砒霜加氨水可生成砷酸，生成的酸如果与锌接触可产生剧毒气体砷化氢。大约 10 年后德国人 Samuel Haneman(1755—1843)发现溶液中的砷能与盐酸和硫化氢生成黄色沉淀。1806 年德国的 Valentin Rose(1762—1807)建立了有机质破坏方法，实现对人体组织，主要是肠胃中砷的检测。

在 1813 年和 1815 年，西班牙的 Orfila (1787—1853)先后出版了《毒药论-普通毒理学》上、下两卷，成为欧洲最早的一部毒物分析专著，在国际上享有重要地位。在书中 Orfila 收集了许多有关砷的资料，并进行动物试验，对砷在体内的分布进行了研究，提出可以通过将除肠胃而外的其他内脏组织检测结果作为体内含砷与否的判断依据，发展了 Valentin Rose 的方法，初步了解了砷的中毒机制。书中还系统地介绍了多种有关矿物毒、植物毒和动物毒的内容，其中包括毒物学总论，毒物的化学性质、生理和病理作用、临床表现、解剖所见与毒物分析，这些问题的论述大都以动物实验结果和病例观察为依据，提出进入人体的毒物会分布在组织中并有所蓄积，形成了一定的学术思想。1832 年，英国化学家 James Marsh(1794—1846)设计了一种测砷装置，灵敏度达到了微克级，这是毒物分析史上甚至是科学史上的一次革命。

在 1805 年后的几十年里，科学家们从植物中发现了许多毒物，由于这些物质多具有碱性，因此被称为生物碱。比如德国药剂师 Buttner 从鸦片中分离出吗啡，Cavendisch 和 Bennet 从番木鳖种子中分离出士的宁，Desose 从金鸡纳树皮中分离出奎宁，另外还有阿托品、毒芹碱、尼古丁、可卡因、乌头碱相继被分离和提炼出。这些物质生理作用强，被用以投毒的事件也较多，因此有关这些毒物的检测成为 19 世纪毒物分析的热点。

1851 年，比利时化学家 Jean Servais Stas(1813—1891)完成了毒物分析史的第二次突破，建立了从尸体中提取生物碱的方法，即 Stas 法。该方法用乙醇对生物检材进行反复浸提来提取生物检材中的生物碱，一直到 20 世纪中叶仍是检验有毒生物碱的基本提取分离方法，只是后来做了一些改进和补充，成为改良的 Stas-Otto 法。在当时的条件下，科学家们用 Marqui 试剂、Mandelin 试剂、Frohde 试剂以及 Mecke 试剂来进行生物碱的检识，尽管当时对反应的原理认识不清，但通过这些方法的颜色反应结果能够判断检材中是否含有生物碱。

(二) 近代毒物分析(19 世纪末—1960 年)

在近代，除了传统的砒霜和生物碱外，毒物的种类还包括随着制药工业发展人工合成的各种治疗药物。1863 年 A. Beyer 合成了巴比妥酸，1904 年 E. Fisher 和 J. V. Merlin 发现了巴比妥酸的两种衍生物即巴比妥和苯巴比妥，它们均可用作安眠镇静药物，以后又相继出现了阿密妥、戊巴比妥、司可巴比妥等。这些药物以及其他新药，如抗精神病药物、抗抑郁药、抗癫痫药物、麻醉药物和镇痛药物等，在治疗疾病的同时，也会成为毒物。因此，近代的毒物分析除了分析传统的砒霜

和生物碱以外，更多时候需要分析这些人工合成的毒药物。

关于毒物的提取分离方法，该段时期多采用传统的方法，如：挥发性毒物采用水蒸气蒸馏法；金属毒物采用氯酸钾-盐酸或硝酸-硫酸破坏有机质，非挥发性有机毒物采用Stas-Otto法分离生物样品中的酸性、中性、碱性有机毒物，并开始逐渐研究蛋白质沉淀法和酶水解法等，对腐败组织的处理也开始进行研究。

在该时期分析方法有了大的进展。人们发现每种生物碱都有自己的熔点，科学家设计了微量熔点测定仪用于生物碱的检测。英国法医学家、毒理学家 Alas Stewart Curry 研究了柱体色层分析和纸色层分析法，这是自 Stas-Otto 法建立以来毒物分析的一项重要进展。20 世纪初，毒物分析方法由定性分析逐步发展到了定量分析，比如用比色法来定量检测毒物，用滴定法测定砷含量和电解法测定锑含量，后来采用光谱分析进行定性和定量。到 20 世纪中叶，开始采用光度计来测定一氧化碳，并设计出光焰光度计，同时用放射化学技术来检验金属性毒物。

（三）现代毒物分析(1960 年至今)

20 世纪 60 年代以来，由于农业生产的需要，大量的农药品种相继问世，如有机磷、氨基甲酸酯、拟除虫菊酯杀虫剂以及杀鼠剂、杀菌剂、除草剂等，同时天然及合成药物品种也在迅速增加，使得毒物品种不断增多。此外，许多成瘾物质，如乙醇、鸦片、海洛因、可卡因、大麻等的滥用也日趋严重。针对不断出现的毒药物新品种，毒物分析学家逐步开展了新的研究，取得了很大进展。

首先不断改进毒物的提取分离方法。Stas-Otto 法已较少使用。而是针对各种毒物性质，结合检材特点和分析方法要求进行分离净化。比如对于组织及体液中挥发性毒物采用微量扩散法或顶空气相色谱法分离；又如分离非挥发性有机毒物，采用蛋白质沉淀法等去除蛋白质，根据药物的酸碱性调整pH，再选用有机溶剂提取药物。20 世纪 70 年代开始采用固相萃取分离技术，是毒物分离提取史上的一次突破性革命。同时为了进一步纯化样品，采用缓冲液洗涤法、薄层层析法和柱层析法等方法进行分离。20 世纪 90 年代后，采用超临界萃取、固相微萃取及微波萃取技术，并结合使用一些自动化提取方案，分离提取效率不断提高，回收率也显著改善。

其次不断建立和发展毒物的分析方法，提高检测的灵敏度和准确度。检测方法多采用现代化仪器，进行原药及其代谢物的定性和定量分析，对灵敏度低、专属性弱的化学颜色反应的使用逐步减少。20 世纪 60 年代，国外开始普遍采用紫外分光光度法、红外分光光度法、薄层层析法、气相色谱法及衍生化气相色谱技术检验毒药物，使得检测的灵敏度达到 μg 级甚至 ng 级。20 世纪 70 年代，开始用中子活化、原子吸收分光光度法定性和定量分析人体组织中的金属毒物。同时，在这一时期，高效液相色谱法和质谱也应用于毒物分析中，使得高沸点、难气化、极性大的毒物能顺利检出，而气相色谱和质谱联用技术在快速筛选和鉴定毒物方面具有很大优势，若仪器配备有已知品的质谱图库，便能快速检索，方便地进行常规毒物分析。20 世纪 70 年代中期，免疫化学方法，如放射免疫分析和酶复合免疫分析方法应用于毒物分析，这些方法灵敏度高，且无需对样品进行分离提取，可以用于毒物的筛选。适用于血液、尿液的直接分析，且分析灵敏度可达 1～2 μg/mL。

二、国内简史

（一）我国古代毒物分析的产生和发展

我国的法医学有着悠久的历史，毒物分析学科的产生和发展与法医学的历史密切相关。我国的法医学检验可追溯到战国时代（公元前 475 年—前 221 年）。唐、宋时期，逐

步形成较严密的法医检验制度。五代时期和凝父子合著了《疑狱集》(公元951年),五代至宋朝时期,《内恕录》、《平冤录》、《检验格目》、《折狱龟鉴》、《棠阴比事》等法医检验著述相继问世,南宋时宋慈所撰写的《洗冤集录》(1247年)是中外学者公认的现存最早的系统法医学著作。

宋慈(1186—1249),字惠父,福建建阳人。先后四次出任提点刑狱(即主管一省的司法刑狱和监察等职)。1247年,即南宋淳祐七年,宋慈任湖南提点刑狱。他总结订正了历代《内恕录》等法医检验著述,收集民间的实践经验,加上自己多年审理案件的经验,综合整理,编成了《洗冤集录》,后人通称为《洗冤录》。

《洗冤集录》分5卷,共53条,记述了人体解剖、尸体检验、现场检查、死亡原因鉴定、急救方法等内容。在第三卷"服毒"一项里,详细阐述了许多毒物,如鼠莽草、巴豆、砒霜、水银、河豚及蛇虫等的中毒症状、中毒者尸表所见以及某些中毒的检验和解救方法,并阐述了空腹服毒、体弱多病者服毒、生前服毒、死后将毒药放入口中假作中毒等不同情况在尸表上的区别。在检验服毒的方法方面,书中提到"若验服毒,用银钗,皂角水揩洗过,探入死人喉内,以纸密封,良久取出,作青黑色,再用皂角水揩洗,其色不去。如无(毒),其色鲜白。"这是我国最古老的毒物检验方法。

《洗冤集录》从13世纪到19世纪沿用600多年,先后传入朝鲜、日本、荷兰、德国、法国、英国等,对世界法医学(包括毒物分析)的发展做出了重大贡献。

元、明、清三代的法医学著作大都以《洗冤集录》做蓝本,对内容加以引证、订正、补充、仿效等,较重要的有:元代王与的《无冤录》、明代王肯堂的《洗冤录笺释》、清代沈家本的《补洗冤录》等。增加了毒物的种类,如水银、轻粉、银黝、宫粉、煤炭毒、盐卤、巴豆、钩吻、莨菪、苦杏仁、草乌头、鸦片、鸩毒等。对中毒症状、尸检所见、检验方法等做了一些合理的修订和补充,如下所描述的实例1-3。同时还增加了许多案例、注解和辨析等。

> 实例1-3:
>
> "中煤炭毒,中炕漏火气而臭秽者,人受熏蒸,不觉自毙,其尸软而无伤,与夜卧梦魇不能复觉者相似。"
>
> "服卤死者,……,其尸虽发变,心肺不烂,取汁煎之,尤能得盐。"
>
> "中水银毒身死者,以黄金验之,色白者是。"

我国古代检验砷较国外早500多年,但由于当时时代和环境的束缚,毒物分析同其他自然科学和应用科学一样,没有得到大的发展,加上当时认识的局限,故有一些牵强附会不符合科学的观点。但无论如何我国古代毒物分析积累了许多宝贵经验,取得了重要成就。比如在各类毒物中毒的一般症状、中毒疗法、中毒证明(分析)等方面奠定了理论和实践基础。这些毒物包括金属毒物(水银制剂、砷剂、盐卤、铅等)、植物毒物(莨菪子及曼陀罗花、杏仁、乌头、钩吻、鸦片等)、动物毒物(蟾蜍)、气体毒物(一氧化碳、天然气)、食物毒物(蟹、细菌性食物)等。同时古代毒物分析为现代毒物分析的知识体系的建立也做出了重大贡献,比如有关毒物的定义、毒物与中毒、毒物与法律、毒物作用的条件等方面的内容。

(二)我国近代毒物分析

辛亥革命以后,司法部门开始废弃过去不作验尸的陈规,并采用现代法医检验技术(包括毒物分析)。20世纪初,欧美等先进国家的现代法医学传入我国。1915年,国立北京医学专门学校和浙江公立医药专门学校首先开设了裁判医学课程。同年,浙江公立医药专门学校还在药科开设了裁判化学课程,专门讲授毒物分析。随后,全国不少高等院

校先后设置有关法医学或法医毒物分析的课程，不少的院校和研究所在进行教学和科研的同时，也接受司法部门委托的检验和鉴定工作，当时的食品、药品检验所和卫生防疫站等也根据实际工作需要开展了此项工作。

1931年，黄鸣驹先生编写了《毒物分析化学》一书，1950、1957年黄鸣驹先生又先后两次对该书进行了修订，该书是我国第一部结合现代科学的法医毒物分析专著。书中系统介绍了各种常见毒物及中毒检材的分离提取和化学分析方法。该书对开拓和促进我国近代毒物分析的发展做出了重要贡献。除此而外，当时还出版了一些有关毒物分析的著作和译著。1932年法医研究所在上海真如成立，林几博士任该所第一任所长。当时的法医研究所设三科，其中包括有毒物分析化学。

在该时期内，法医毒物分析在理论方面，已经形成现代化学理论为基础的完整的理论体系；在检验方法方面，用现代毒物分析方法取代了古代的"银钗验毒"，并逐步开始做定量分析；在组织结构方面，建立法医研究所、全国性的法医审议会，在人员方面，有了经正规培训的人员从事检验工作，各地司法分院配有专门的毒物分析人员；在研究方面，完成了一批项目，出版了全国性的法医学术刊物，学术活动比较活跃，比如《法医月刊》中就刊出了有较高质量的毒物分析论文。法医学已经作为医学的必修科目之一。

以后，由于历史的原因，我国的法医学(包括毒物分析)受到严重的破坏，直到1949年新中国成立后，才有了新的飞跃。

(三) 新中国成立后我国现代毒物分析的发展

新中国成立时，少数中心城市的警察部门和个别卫生研究部门的实验室兼作毒物分析。新中国成立后，我国的毒物分析取得较大发展，大体可分为三个时期：

1. 20世纪50至60年代　1951年，司法部成立了法医研究所，前后举办了三期法医培训班。卫生部举办的法医学高级师资班，也为国家培养了一批法医学的骨干。与此同时，公安部在各省市建立毒物分析实验室，1953年和1955年举办了两期毒物分析技术人员培训班，培养了不少的毒物分析专门人才，提高了毒物鉴定的水平。随着仪器设备的配备，工作条件不断改善，技术水平不断提高，其中部分实验室已配有当时比较先进的仪器，如发射光谱仪、紫外分光光度计和极谱仪等。当时应用的分析技术主要是化学分析法、纸色谱法及薄层色谱法，以定性分析为主。分析的毒物种类不断扩大。所用的检材也由主要为胃内容物和剩余食物等慢慢发展到生物组织和体液。由于方法灵敏度的原因，检材用量较大，约需几十克，所用的提取方法主要是Stas-Otto法。

2. 20世纪70年代后期至80年代　这一时期有较多的单位开始购置新出现的各种分析仪器，毒物分析水平提高较快。1972年，公安部重建刑事科学技术研究所，1977年，由公安部刑事科学技术研究所主持进行薄层色谱技术的实验和研究，其研究成果在全国推广使用，从而使我国毒物分析水平由单一的化学分析法发展到薄层层析分析阶段。20世纪70年代后期开始，公安部刑事科学技术研究所和部分省市公安厅局开始配备和使用一些较现代化的分析仪器，如薄层扫描仪、气相色谱仪、红外分光光度计、紫外分光光度计、发射光谱仪、原子吸收光谱、色谱/质谱联用仪等，从而对毒物的快速定性检验发挥了极好的作用。在一时期内，随着各种毒物仪器分析方法的建立，毒物分析的技术水平不断提高，比如能顺利检出体内一些存量微少的毒物，可以检测的毒物种类不断增多，检材的范围扩大到胃、肠、肝、肾、脾、肺、心、脑、血和胆汁等多种组织，用量也大大减少，如胃内容物1～5 g，组织体液5～10 g(mL)。提取方法逐渐摆脱了传统的

Stas-Otto 法，开始用直接提取法、酶水解法、沉淀蛋白质等方法。而且，在这一时期能对检材中所含多种毒物进行定量分析，为判断中毒或死亡原因提供依据，提高了毒物分析结果在案件侦破中的作用。

1976 年公安部刑事科学技术研究所创办的《刑事技术》杂志对实际工作中取得的成果进行交流，发表了不少的案例、论文。80 年代司法部又恢复了司法鉴定科学技术研究所，公安部成立中国刑事警察学院。1984 年山西晋祠会议后，全国重点医药院校建立了法医学系，其中不少成立了法医毒物分析教研室，招收本科生和研究生。1985 年中国法医学会创办的《中国法医学杂志》、1985 年司法部司法鉴定科学技术研究所创办《法医学杂志》等，介绍了很多毒物分析的新技术、新方法，对我国毒物分析技术水平的提高起到了极大的作用。

3. 20 世纪 90 年代至今　20 世纪 90 年代以来，随着工农业生产的发展，药物、农药、滥用物质等的不断涌现，使涉及中毒案件的毒物种类不断增加，同时，由于法制建设的需要，对毒物分析的要求也越来越高，各从事毒物分析的机构和人员逐步从定性检识为主转入应用现代技术进行痕量未知毒物的鉴别和含量测定，研究和采用净化效率高、回收率显著的分离提取技术，开展对代谢物进行研究，同时对有关毒物检验的标准化进行了大量研究工作。

目前，我国的毒物分析在检材用量、检验手段、检出限和提取净化方法等方面均已达到国际水平。相当多的实验室使用了高效液相色谱法、气相色谱衍生化分析技术、色谱/质谱联用仪、毛细管电泳等现代化的分析技术。少数实验室还配备了液相色谱/质谱联用仪、傅里叶变换红外光谱仪、全自动药物分析仪等。对毒物代谢物研究也取得了飞速发展，如安眠镇静药物、农药和毒品在体内代谢产物的检测。同时我国毒物分析采用内标质量控制技术，建立了毒物分析标准化方法，对几大类几十种药物的分离提取、净化和分析全过程实施了内标质量控制，并制定了几十个毒物分析标准化方法。

目前，色谱学、光谱学、质谱学，免疫学、酶化学、分子药理学、毒物代谢动力学、毒物基因组学、毒物蛋白组学正不断促进本学科发展，许多新理论、新技术、新思路不断与本学科交叉融合。

小结

人类对毒物的认识和理解不断发展。毒物引起机体中毒反应不仅与毒物性质有关，还受到毒物进入机体的方式、剂量、中毒者的生理状态等诸多因素影响。毒物的定义和分类是相对的。各类毒物的中毒症状、机体代谢情况等有关知识对于正确地理解中毒和中毒鉴定具有重要意义。毒物分析有明确的任务和特点。

中毒事件经常发生，要正确处理疑为中毒引起的自杀、谋杀或意外事(案)件，法医师和警察应该全面、细致地了解事件发生的前后经过、中毒表现、尸体解剖所见等有关情况，提出检验方向或目的。送检的材料必须按照一定的要求采集、贮存和处理。毒物分析工作者在接受任务后，审查并收受检验材料，然后根据分析目的、检材性状、待检测物含量高低、适用方法等制定检验方案。检验方案包括取用哪些检材、取多少、如何处置、如何预试、用何种方法定性和定量等。方案制定后，对检验材料中的毒物进行分离提取，用化学法、仪器分析等方法进行检测，得出结果。中毒鉴定需对检验结果进行评价，并综合各方面材料得出结论。

Summary

The knowledge and comprehension concerning poison mechanism keep progressively developing. There are a wide variety of substances that are harmful to the human. There are many factors affecting the mechanism, including the way poison getting into human body、dosage、human physiological state as well as the property of poison. Knowledges on poisoning symptom or metabolism in human body will help us understand poison and poisoning correctly.

In order to deal with cases caused by poisoning accident correctly, death investigation should include a thorough investigation of the circumstances, a clear documentation of symptoms and signs exhibited and of course a careful autopsy whereby appropriate specimens are collected and properly stored for toxicological analysis. The samples must be collected, stored and disposed according to correlative criterions. After receiving samples, the analyst should carry out a project based on analysis purpose、characteristics, content and application method of sample etc. The project consists of several procedures, including the selection of sample kinds, concentration, disposal, qualitation, quantitation of sample and so on. The procedure should be sequentially followed by extraction and separation, chemical analysis and instrumental analysis. The conclusion should base on not only the results but also a wide variety of documents.

思考题

1. 如何理解毒物的概念是相对的？
2. 了解事(案)件发生前后的情况对诊断及判定中毒的意义何在？
3. 中毒症状在中毒法医学鉴定中有何意义？
4. 正确理解毒物在体内的吸收、分布及排泄规律的意义何在？
5. 如何评价法医毒物分析的结果？如何根据法医毒物分析结果判断是否中毒？
6. 在采取、贮存、送检供作毒物分析的检材时，应注意些什么问题？

（四川大学华西基础医学与法医学院　廖林川）

第二章 检材及检材处理

要点	
体外检材和体内检材	体外检材主要是指那些未经过机体吸收、分布、代谢等过程的检验材料，检材中药毒物在形态、气味、酸碱性、溶解度和化合状态等方面尚全部或部分地保留其原有形状和性质。药毒物进入机体会经过体内过程，体内检材主要是指取自生物活体或尸体的检验材料，比如血、尿、肝、肾、尸体腐泥等。在选择检材处理方法、分析方法及根据分析结果作出法医学鉴定时应该考虑到检材的特点。
检材处理	妥善处理检材对得到客观的检验结果及符合事实的法医学鉴定结论有重要意义。 检材处理基本原理是利用检材中待检物与其他共存物在性质上的差异而采取不同的方法来进行分离。检材处理的方法和程序通常是根据所采集的检验材料的性质、分析的目的物、允许的分析时间和选用的分析方法要求等来决定的。 根据待检毒物的不同种类，可以采用相应的检材处理方法。对于一些检材，特别是复杂的体内检材，进行处理前往往还需要去除蛋白质以及结合物水解等预处理手段。
相关主题词	样品处理技术　生物材料　分析方法　物理化学　体内药物分析

第一节 检材

在法医毒物分析的工作中，会遇到各种类型的事（案）件，所涉及的检验材料是多种多样的。用于检验的检材大致可分为体外检材（vitro specimen）和体内检材（body specimen）。不同的检材，其来源、性状和组成都有许多不同，所以采用的检材处理方式及检测方法也有所差别，用不同性质的检材进行检验所得到的分析结果在法医鉴定中的意义亦不完全相同。

一、体外检材

体外检材是指那些未经过体内吸收、分布、代谢等过程，其中毒物在形态、气味、酸碱性、溶解度和化合状态等方面尚全部或部分地保留其原有形状和性质的检材。

体外检材多是在侦察中收缴的或现场收集到的各种可疑物质，比如：可疑食物、药品、毒饵、可疑容器等，还包括一些虽然来自于人体，但其中所含毒物还未经变化的检材。例如进食不久后产生的呕吐物，中毒急死个体的胃内容物。体外检材不仅种类繁多，所能采集到的量也有较大差异，有的很少，如残留在药瓶内的液体制剂、洒落在现场的粉末；有的却很多，例如剩饭，中药熬煮后剩余的药渣等。除此之外，体外检材存在的状态也是多种多样的，有固体、液体甚至多种状态混合的。

一般来说，体外检材中毒物因未经过人体代谢，组成相对简单，含量相对较高，但是均匀性上差异就很大。有含量很均匀的药片、药粉等，也有含量不均匀的呕吐物等。在检测时应注意到体外检材的这些特性。

二、体内检材

体内检材也称为生物材料(biological material)或生物检材，它主要是指取自生物活体或尸体的检验材料，比如血、尿、肝、肾、玻璃体液、脑脊液、尸体腐泥等。

毒物进入机体后，经过体内吸收、分布、代谢等过程，其性状会发生变化，有些毒物经过体内过程后，其在体内的存在形式会成为代谢物或结合物，不再以原药的形式存在，或尚存部分原药形式。相对于体外检材来说，体内检材中毒物及其代谢物的含量一般很低，特别是一些中毒量和致死量很低的剧毒物质，原药、代谢物和结合物含量就更低微。同时生物材料中除含有待检测的毒物而外，还有比较复杂的成分，会干扰毒物的检测，这就增加了检测的难度，对分析方法提出了更高的要求，比如要求检验方法应具有较高灵敏度，更强的分离能力。

不同的毒物在机体中到达的靶器官是不同的，其分布情况也有所差异，因此在采取体内检材时应首先了解各种毒物在体内的分布情况并选择最具代表性的检材来进行检测。虽然毒物因分布特点的差异在机体各个部位的量有所差异，但是在同一器官其分布是比较均匀的，从一部分器官组织中测得的毒物相对含量可以代表全器官的相对含量。

大多数情况下，体内检材的检测结果可作为中毒判断的直接依据，但评价体内检材所得到的检验结果时应考虑到该结果是否能反映真实情况，不能因为检材中未检出某些毒物就排除有中毒的可能性，因为若待检毒物在体内极易变化分解或检验材料腐败变质或检测方法不够灵敏，检材中的毒物浓度就会无法达到所用检测方法的检测限，可能有检测不到的情况。另一方面，不能因为检材中检测出了某些化合物就肯定认为是中毒，要考虑到该种化合物是否来源于正常的药物治疗或因食用某些食物所致等情况。

体外检材与体内检材的定义、来源、特点及其检验结果对于法医学鉴定的意义均不一样，两者的比较见表 2-1。

表 2-1　体外检材与体内检材的比较

	体外检材	体内检材
定义及来源	毒物未经机体吸收、分布、代谢等过程，多取自现场	毒物经体内过程，主要取自生物活体或尸体
类别	种类多而杂(现场可疑物、药品、药渣、剩饭、毒饵、可疑容器等)	种类相对固定(血、尿、肝、肾、玻璃体液、脑脊液、尸体腐泥等)
数量	数量差异很大	可取检材量相对较固定
存在状态	多种多样(液体、固体、半固体)，包装差异大	差异相对较小
组成	相对较简单，不同检材差异大	复杂，但相对固定
毒物性状	全部或大部分保留了原有的形状和性质	已失去原有的表观性状，甚至已转变为代谢物
毒物分布	有的均匀，有的不均匀	相对均匀
毒物含量	含量一般较高，但相对量不能反映出总量	含量一般较低微，但相对量可反映出总量
检验结果的意义	一般不能作为中毒鉴定的直接依据	大部分情况下可作为中毒鉴定的直接依据

另外，检验材料除了按上述特征分为体外和体内检材外，还有对照检材，或称为参比检材。对照检材是毒物分析工作中需要进行对照试验时采取的检材。这类检材一般是在采集可疑或待测材料时采取的相关检材。例如，在被可疑毒物污染的各类衣物用品上采集其未被污染部分用作对比物，采集埋尸坑中不受腐尸浸渍的棺木、殓物、泥土等。对照检材的取样和处理方式以及整个检验过程都应与待测检材进行同样的操作。

第二节 检材处理

检材处理，是指对检材中的待测毒物进行分离(isolation)、纯(净)化(purification)、浓缩(富集)、衍生化等处理，使检材中的毒物成为适合于所用分析方法所要求的形式。所以有时又称为检材的分离净化，或分离提取。经过检材处理所得到的部分叫检材提取物或待测样品，这里所说的检材处理主要是指检材的分离净化，有关样品的衍生化将在第四章中介绍。

一、检材处理的必要性

法医毒物分析中的检材具有种类繁多、组成复杂、浓度极低、物理形态范围广泛等特点。除了其中可能含有待检毒物外，还含有其他非待测成分，尤其是生物检材，其中含有的脂肪、蛋白质、色素等内源性物质，会干扰检测甚至损坏仪器。另一方面，检材中待测毒物含量低微。尽管各种先进仪器方法及技术，比如光谱法、色谱法、色相色谱/质谱联用法等灵敏、准确的方法都已广泛地应用于法医毒物分析，但绝大多数分析仪器都不可能直接对检材进行检测。如果直接进行分析，干扰因素会非常多，其中毒物浓度可能达不到分析方法的灵敏度要求，还会出现其他问题并直接影响分析结果的可靠性和准确性。比如用色谱法检测毒物的例子(实例 2-1)。因此，在进行分析检验工作时，大多数时候都需要选择科学有效的方法和技术对检材进行适当的处理，通过分离、提取、纯化使待测物与绝大部分的非待测成分分开并富集浓缩，成为适合于分析的样液，满足检测方法和仪器的要求。

> 实例 2-1：
>
> 用高效液相色谱法检测血浆中某一毒物时，如果注入到进样器中的待测样品中含有较多的蛋白质和脂肪等，可能会堵塞色谱柱，造成柱压升高，损坏仪器或仪器附件。即使勉强能进行色谱分析操作，也可能由于无法将待测物与内源性物质有效地分离，而影响分析结果的准确性。

根据检材的情况、待检毒物的性质及适用的仪器方法选择适宜的方法进行分离、净化对于绝大多数检验工作是非常必要的。但也有因为所采用分析方法的特点，无需进行检材处理的情况，比如用免疫法直接筛查尿中违禁药物的例子；或者由于检材本身成分单一，待检毒物含量高，则无需进行检材处理的情况，比如实例 2-2。有些检测方法在进行检测的同时，就对检材中的待测物进行了分离净化。最典型的例子就是采用 Widmark 瓶和 Conway 碟进行扩散分离和检测血液中乙醇。

> 实例 2-2：
>
> 毒物的结晶、粉末或组成简单的药物制剂、食饵等，只需进行简单的溶解、过滤、定容制样即可选择适当检测方法进行检测。

检材处理在法医毒物分析过程中是一个既耗时又极易引进误差的步骤，也是法医毒物分析中极重要而且必要的步骤，检材处理的好坏直接影响法医毒物分析的最终结果，因此应该重视检材处理。

二、检材处理的基本原理

检材处理的基本原理是利用检材中待测毒物与检材中其他共存物在性质上的差异而采取不同的方法来进行分离、纯化。

1. 根据形态不同　挑选或筛分方式主要适合于一些外观形态有差别的检材的分离。例如在可疑粉末中混存有类似药片光整外缘的颗粒(图2－1),可借助放大镜等工具逐一挑选出来;混存于茶叶中的中草药或药渣碎块(图2－2),可根据不同形态分开并挑选出来。

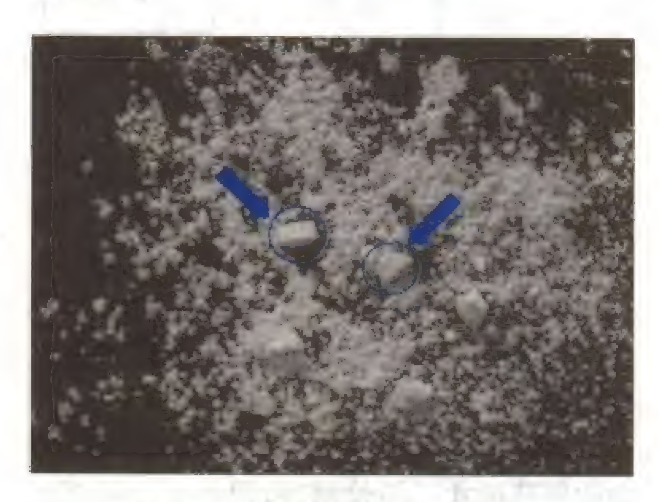


图2－1　可疑粉末中混有具药片光整外缘的颗粒

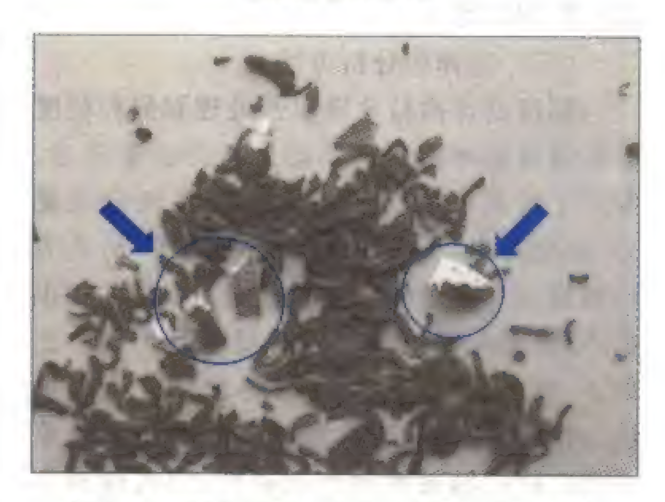


图2－2　混存于茶叶中的中草药或药渣碎块

2. 根据理化性质差异进行检材处理

(1) 根据相对密度(原称比重)不同　利用离心机或分液漏斗等装置来进行分离。

(2) 根据分子或颗粒大小不同　混悬液中的粗颗粒可用纱布、滤纸进行过滤或采用离心等办法分开;液体中极细小的微粒可用超滤膜过滤;均态液体中分子大小悬殊的物质可借助透析膜、分子筛、大孔树脂等予以分离。

(3) 根据挥发性能不同　有些毒物具有挥发性,可使之先挥发成气态再设法收集而与不挥发物分离。

(4) 根据溶解行为不同　水溶性的毒物可用水浸出的方法来与不溶于水的物质分开;脂溶性较强的毒物可用有机溶剂从检材中提取出来;利用不同物质在不同有机溶剂中的溶解度的差异性,可用不同的溶剂处理使之分离。还可利用同一物质在不同状态下,其溶解度的差异进行分离,比如,使溶于有机溶剂中的碱性或酸性毒物成为溶于水的盐,或使其从溶于水的盐中游离出来而溶于有机溶剂。

(5) 根据化学性质不同　加入某些试剂进行化学反应,使被分离的各种物质生成性质不同的产物从而达到分离的目的。例如:①使被检测的毒物变为气态,或将不挥发的变成可挥发的;②使毒物及其代谢物从体内形成的缀合物中解离出来;③进行有机质破坏,保留要检测的有毒金属类;④使被检测的毒物变成沉淀从溶液中析出,或用试剂使干扰检验的蛋白质类变成沉淀除去。

(6) 根据分子被吸附的性能不同　利用吸附剂对不同极性或亲和力的物质吸附力不同而将待测毒物与杂质分开。

三、选择检材处理方法的原则

检材处理的方法应该根据检材的类型、毒物的性质、分析的目的、采取的分析方法和分析仪器对样品的要求等来选择。

在进行检材处理过程中,待测毒物可能会有所损失,还会有一些杂质难以除去,理想的检材处理方法是既能尽量除去杂质,又能

纯化富集毒物。因此，要得到可靠的分析结果，需要选择适宜的检材处理方法和进行严格的操作。

选择检材处理方法应考虑以下几个方面的内容。

（一）检材的类型

前面提到对于某些毒物含量较高的体外检材（比如药片、收缴的毒品、输液器具中剩余液体），由于组成相对简单，且待测物含量相对较高，可以直接取其一部分进行简单处理（如溶解、过滤及定容），即用适合的分析方法进行检测，不需要对检材进行太复杂的处理，而对于大多数的体内检材，如组织、器官、血液等样品，由于检材中除含有待测组分，还有大量的蛋白质、脂肪、色素等内源性杂质，因此在选择方法时应考虑如何除去内源性杂质，使待测毒物与内源性物质分离开，这时选择的方法相对比较复杂，步骤也较多。比如血液检材，需要考虑如何去除蛋白质，如果毒药物与蛋白质结合率高，要设法使毒物从蛋白质结合物中释放出来；如果是尿液检材，需要考虑采用酸或酶水解使待测药毒物从结合物中释出；对于食物检材，如果其中含有的油脂成分较多，常常需要进行除油脂的处理。

（二）待测毒物的性质

待测毒物及其代谢物的性质如化学结构、理化性质（酸碱性、溶解性、挥发性等）、化学稳定性、存在形式、浓度范围等也是选择何种检材处理方法（也包括测定方法）应考虑的因素。比如，如果待测毒物是结构简单的小分子化合物乙醇、氰化物等，且又容易挥发，可以考虑选用分离挥发性毒物的常用方法；如果是巴比妥、生物碱等非挥发物质，则考虑用分离非挥发性有机毒物的方法。对于酸性药物巴比妥，考虑在酸性条件下进行提取，而生物碱在碱性条件下提取，但对于有些生物碱在不适宜的 pH 条件下又会有分解的可能，这时就需要控制提取条件。一般情况下，各类毒物常用如图 2-3 所示的分离方法。

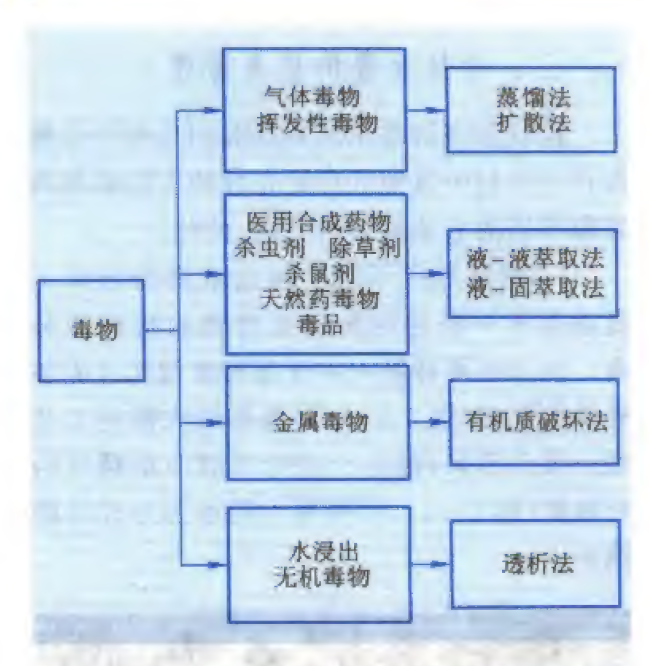


图 2-3 各类毒物常用分离方法

另外检材中待测毒物的浓度大小也是选择处理方法的重要因素，浓度大的检材对方法要求可以低一些，浓度低的则要求高。由于在法医毒物分析中，待测毒物的浓度预先并不清楚，因此对于处理方法的要求应该高。

毒物进入生物体后会发生代谢，有时毒物的原药形式不易检测到，因此如果需要检测代谢物，选择检材处理方法时还需要考虑到代谢物的性质。

（三）选择的分析方法

如何进行检材处理以及处理到何种程度亦需要根据随后所采用的分析方法来考虑。能用于法医毒物分析的方法有不同分离能力、鉴别能力，不同的准确性、灵敏性，分析方法的检测系统对样品纯净程度和浓度的要求也不同，因此对检材处理的要求就不同。比如，一般来说，专属性较差的紫外分光光度法，对样品纯度的要求相应较高；而放射免疫法具有较高的灵敏度和选择性，除去检材主要的干扰物质后即可直接测定；对于高效液相色谱法，因为蛋白质等杂质容易堵塞进而损坏色谱柱，因此在进样前，需要除去检材中的蛋白质；另外有时为了使分析的对象适应

所选用的仪器设备，还需要对待测毒物进行衍生化等处理。

利用毒物的不同性质，结合检材特点和分析方法要求进行分离净化的具体方法很多。有时单用一种方法就可达到较好的分离作用；而在大多数情况下，需将多种方法综合使用或反复使用，实现分离、净化及富集。

四、检材处理方法

法医毒物分析中的检材处理方法很多，如果根据毒物的分类不同，大致可以按图 2-3 中所列的方法进行各类毒物的分离，此处主要介绍适用于分离挥发性毒物的蒸馏法、适用于多数非挥发性毒物的液-液萃取、液-固萃取等分离方法，对分离金属毒物的有机质破坏方法和分离水溶性无机毒物的透析法进行简要概述，详细内容将在各论中阐述。

（一）预处理

预处理是检材处理的第一步，主要是指对检验材料进行检材制备，调整酸碱性，去除蛋白质及进行结合物的水解等。根据形态进行分离主要适用于简单体外检材，对于复杂体外检材和体内检材，需要先进行调整酸碱性、去除蛋白质和解离结合物等。经过这些步骤，可以使检材中待测毒物易于进行处理和准确测定。但是值得注意的是，并非所有的检材在处理时都需要进行这些预处理。检材酸碱性的调节、蛋白质的去除和结合物的解离需要根据不同的检材和待测毒物性质以及所选定的分析方法来决定。

1. 检材制备　少部分检材分取后可直接供检测用，而大多数检材需制成均匀分散的状态才能适用。例如，药材、块状食物等固体或半固体的检材，需磨成粉末；尸体组织、肌肉等生物材料需制成匀浆。

2. 调整酸碱性　检材中含有的一些具有酸碱性的毒药物，可以是以解离状态存在，也可以是非解离状态存在，这与检材的 pH 有关，由于其解离状态与非解离状态在不同溶剂中的溶解度不一样，因此在进行提取时，常常需要根据待测毒物的性质来调整检材的酸碱性，使待测毒物呈解离状态或非解离状态，从而提高毒物在溶剂中的溶解度。

调整酸碱性时通常根据待测毒物的 pK_a 值来选择适宜 pH。从理论上来说，对于酸性毒物，抑制解离最适宜的 pH 是低于该毒物 pK_a 值 1～2；对于碱性毒物，抑制解离最适宜的 pH 是高于该毒物 pK_a 值 1～2；对于具酸、碱两性的毒物也可找到一最佳 pH 条件。在实际的工作中一般是碱性毒物在碱性 pH 条件下提取，酸性毒物在酸性 pH 条件下提取，在这样的条件下可使绝大多数毒物以非解离形式存在，从而易溶于提取溶剂。

在调整检材酸碱性时，还应该考虑毒物本身稳定性等情况。如某些具有酯、酰胺、亚酰胺、苷键等结构的毒物，在酸性或碱性条件下有水解的可能，为了保持溶液 pH 的稳定，在溶剂提取时可考虑采用缓冲溶液。

3. 去除蛋白质　前面提到处理如血浆和组织等生物检材时常需要首先去除蛋白质。去除蛋白质可以将与蛋白质结合的毒物分离开，从而可以准确测定。去除蛋白质亦可以预防提取过程中出现的蛋白质发泡并减少乳化的形成。去除蛋白质还能保护仪器，比如使色谱柱不易被蛋白质堵塞，延长使用时间。目前去除蛋白质的方法有很多种，下面介绍几种常用的方法。

（1）有机溶剂沉淀法　有机溶剂可以使蛋白质分子内和分子间的氢键发生变化，使得蛋白质脱水后凝聚形成沉淀，进而使结合在蛋白质上的待测毒物及其代谢物释放出来。常用的与水混溶的有机溶剂有：乙腈、甲醇、乙醇、丙醇、四氢呋喃等。在进行操作时，将有机溶剂和检材按一定比例混匀，然后离心分离，取上清液作为检样。如果希望通过离心

使蛋白质沉淀较完全，应选用转速较高的离心机离心。通常转速在 3 000 r/min 左右，较难完全沉淀的蛋白质，转速在 10 000 r/min 进行离心能使检材中析出的蛋白质尽快完全沉淀。

(2) 盐析法 一些无机盐亲水性强于蛋白质，能使蛋白质胶体脱水，并能中和其电荷，使蛋白质失去胶体性而沉淀下来。常用的盐有：硫酸铵、硫酸镁、硫酸钠、氯化钠、磷酸钠等。

在实际的工作中可以将盐析法与有机溶剂沉淀法结合使用。常可以比单独使用一种方式能更多地沉淀蛋白质，如用于色谱分析的检材处理，有时利用上述两种方法除去蛋白质后，待测毒物浓度能达到仪器灵敏度，基本满足需要，便可以直接进样。

(3) 酸性沉淀剂沉淀法 当 pH 低于蛋白质的等电点时，蛋白质以阳离子形式存在。加入强酸可与阳离子蛋白质形成不溶性盐而沉淀。常用的酸性沉淀剂有：10%的三氯醋酸、6%的高氯酸、硫酸-钨酸混合液、5%偏磷酸等。加入这些沉淀剂，待沉淀形成完全后，可通过离心除去。值得注意的是，因为检材中加入了酸，溶液呈强酸性(pH<4)，故在酸性条件下易分解的毒物是不适宜用该方法的。

(4) 重金属阳离子沉淀剂沉淀法 当 pH 高于蛋白质的等电点时，金属阳离子与蛋白质分子中带阴电荷的羧基形成不溶性盐而沉淀。常用的沉淀剂有：硫酸铜-钨酸钠、硫酸锌-氢氧化钠等。

进行去除蛋白质处理时，需要考虑如何选择合适的沉淀剂，使药毒物在所选的酸性或碱性条件下的稳定，亦需要考虑如何选择用量，既要有较高的沉淀效率，又不因沉淀剂的用量太大，使药毒物在检材中的浓度被稀释。表 2-2 给出了一些常用的蛋白质沉淀剂的用量及溶液的 pH，供参考。

表 2-2 常用蛋白质沉淀剂的用量及溶液的 pH

沉淀剂	沉淀 1 mL 血浆中 95%以上的蛋白质时所需沉淀剂体积/mL	上清液pH
三氯醋酸(0.1 g/mL)	0.2	1.4～2.0
高氯酸(0.06 g/mL)	0.4	<1.5
钨酸	0.6	2.2～3.9
焦磷酸(0.05 g/mL)	0.4	1.6～2.7
硫酸铜-钨酸钠	1.0	5.7～7.3
氢氧化锌	1.5	6.5～7.5
硫酸铵	2.0	7.0～7.7
乙腈	1.0	8.5～9.5
丙酮	1.0	9～10
乙醇	1.5	9～10
甲醇	1.5	8.5～9.5

(5) 酶解法 对一些遇酸不稳定或与蛋白质结合牢固的毒物及其代谢物，去除蛋白质常用酶解法。酶不但使组织酶解，而且可使毒物释放出来。最常用的蛋白质水解酶是枯草菌溶素。先将待测检材加缓冲液和酶，60℃培育 1 h，用玻璃棉过滤，得到澄清滤液，再将滤液进行提取。枯草菌溶素可在较宽的 pH 范围内(pH 7.0～11.0)使蛋白质的肽键降解，在 50～60℃具有最大活力，酶解法不适宜处理碱性条件下易水解的毒物。

4. 结合物的解离 一些毒物进入机体内后，容易与内源性物质葡萄糖醛酸或硫酸形成结合物。由于这些结合物的极性常与原药物差异较大，如果按照提取原药物的原则，不容易分离提取，因此需要在直接测定或者进行分离净化之前，将结合物中的毒物解离出来。常用的方法有酸、碱水解法和酶水解法。

(1) 酸、碱水解法 在检材中加入酸溶液并且加热，可以水解释放出结合状态的毒物。酸水解法的优点是水解时间短、水解完全。缺点是加热过程可能使对热不稳定的毒物分解，适用范围有限，专属性较差。此法对吗啡、吩噻嗪类、巴比妥类毒物有较高的提取效率，但是对不耐热或遇酸易水解的毒物乌头碱、阿托品、可卡因、对乙酰氨基酚、地西

泮、氯氮䓬等是不适用的。

碱水解是在检材中加入碱溶液并且加热。碱水解的 pH 常大于 13，条件激烈，仅适用于大麻等个别物质。

(2) 酶水解法　对于遇酸及受热不稳定的毒物，可以用酶水解法。常用的酶是葡萄糖醛酸苷酶、硫酸酯酶或者两者的混合酶。虽然酶水解时间长，由酶制剂带入的黏蛋白可能导致乳化，甚至使色谱柱阻塞，但是酶水解的优点是水解作用温和，专属性强，常被优先选用。

(二) 挥发性毒物的检材处理方法

易挥发性毒物的分离方法多用蒸馏法、微量扩散法、顶空气相色谱法等。

分离易挥发性毒物的方法是基于气液平衡原理。不同的挥发性物质有各自的蒸气压并各自保持着气液两相间的平衡。蒸气压越大越容易从液体状态转化为气体状态，也就越易挥发。物质的蒸气压是随温度的升高而增大的，因此，当一个体系中的挥发性物质在气液两相间共存的时候，如果设法不断除去在气相中的挥发性物质，气液平衡被破坏，液相中的该物质会不断挥发为气体直至完全。将气相中的挥发性物质收集起来，即可达到分离挥发性物质的目的。

下面简要介绍挥发性毒物检材处理的几种方法。

1. 蒸馏法　蒸馏法(distillation)是一种使用较为广泛的分离易挥发性毒物的方法。蒸馏的过程是使被加热的检材溶液达到沸腾温度，此时部分水及毒物气化，将蒸气冷凝后收集起来，即得到含有挥发性毒物的水溶液，从而达到使毒物与非挥发性杂质分离的目的。从理论上讲，如果不将溶液蒸干，不可能全部蒸出挥发性毒物，而蒸干可能出现焦化等问题，所以蒸馏法通常不能将挥发性毒物全部分离出来，只能使大部分得以分离或者说基本上得到分离。

在进行蒸馏法操作中，根据检材种类、待测毒物种类等情况，需要考虑检材的用量、添加的水量、调节酸碱性以及馏液收集量等。胃内容物等检材待测毒物含量相对较高，故检材可以酌情少取，脏器等检材中毒物含量低，则检材可以多取一些；分离氰化物、酚等在酸性条件下易挥发的毒物应将检材水溶液 pH 调节为酸性，分离苯胺等在碱性条件下易挥发的毒物应将检材水溶液 pH 调节为碱性。

检材中可能含有的挥发性杂质在蒸馏时可能会进入馏液，对待测毒物的检测产生干扰，因此应设法避免。常见的是腐败检材中产生的硫化氢会对氰化物检验产生干扰，此时可在检材溶液中加入乙酸铅-乙酸试剂，使得硫化氢生成不挥发性物质硫化铅，再进行蒸馏。

在蒸馏操作前还可以在检材溶液中加入适量的硫酸钠、氯化钠、硫酸铵等，使检材溶液被无机盐饱和，水蒸气压降低，使得馏液毒物浓度提高。

蒸馏挥发性极强的毒物时，还应该将冷凝管的末端浸入到吸收液中，同时对收集器进行冷浴收集，防止毒物挥发。

蒸馏法主要有直接蒸馏法和水蒸气蒸馏法，可以根据毒物的挥发性不同选择不同的蒸馏方式。

(1) 直接蒸馏法　直接蒸馏法使用的装置简单，如图 2－4 所示。直接蒸馏法是直接对装有检材溶液的圆底烧瓶进行加热蒸馏，收集馏液进行检测。它适用于沸点较低的挥发性毒物的分离。直接蒸馏法的优点是快速、操作简便。缺点是蒸馏时，检材会因受热不均匀而产生焦化或破坏等，不利于进一步的非挥发性毒物的检出。在常压下进行的蒸馏，分离也常常是不完全的。进行直接蒸馏时需要在检材溶液中加入消泡剂和沸石，起到防止起泡和爆沸的作用。

(2) 水蒸气蒸馏法　水蒸气蒸馏法是将水蒸气发生器中产生的水蒸气通入装有检材及适量水的烧瓶中，水蒸气将检材溶液加热，挥发性毒物随水蒸气挥发，将蒸气冷凝并加

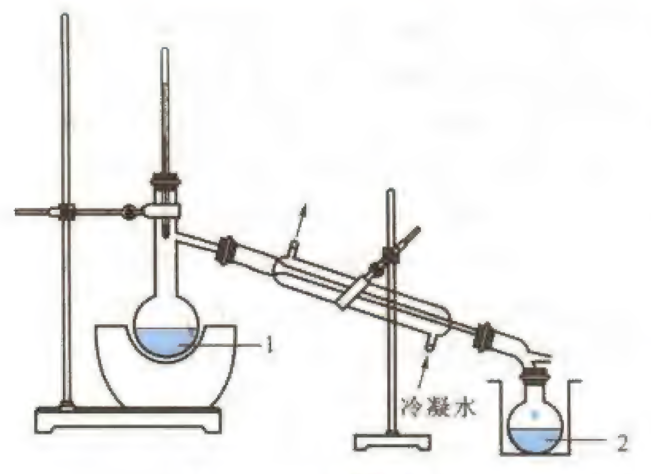


图 2－4　直接蒸馏装置
1. 蒸馏烧瓶　2. 馏液收集瓶

以收集，达到将挥发性毒物分离的目的。水蒸气蒸馏的装置如图 2－5 所示。

与直接蒸馏法相比，水蒸气蒸馏法的优点有：检材中加水较少，蒸馏瓶中始终保持有饱和的水蒸气，蒸馏过程始终在较小体积下进行，检材溶液中毒物浓度较高，馏液中毒物浓度也较高；检材不受直火加热，避免了检材焦化产生挥发性物质，同时也可以使蒸馏后的检材用于其他毒物的分析。缺点是操作繁琐，室温低时蒸馏的速度较慢。在进行水蒸气蒸馏法时，为避免检材瓶散热引起水蒸气凝集，使得检材溶液体积增大，通常将检材瓶用水浴加热。

2. 扩散法　扩散法(diffusion method)是在装有检材的密闭系统中加入化学试剂作为吸收剂，吸收挥发性毒物蒸气，破坏系统中毒物的气液平衡，使得检材中毒物不断气化，直到检材中毒物大部分或者几乎全部被吸收为止。扩散法通常在 Conway 碟(图 2－6)或 Widmark 瓶(图 2－7)等装置中进行。吸

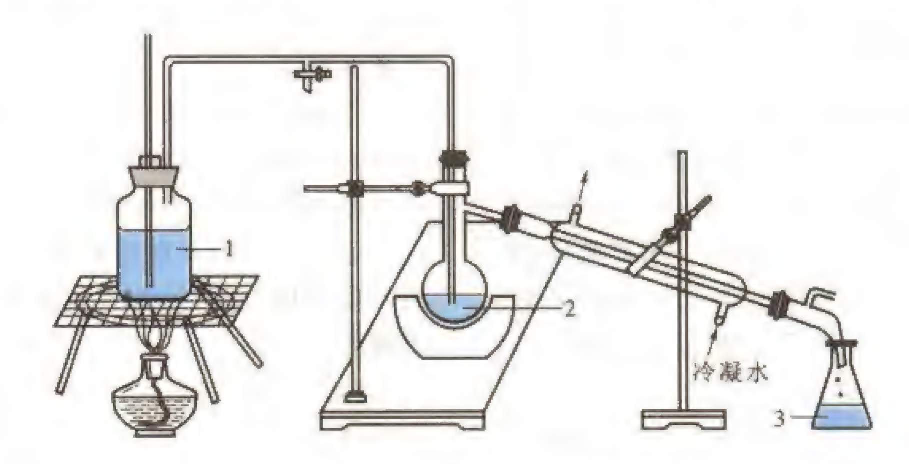


图 2－5　水蒸气蒸馏装置
1. 水蒸气发生器　2. 蒸馏烧瓶　3. 馏液收集瓶

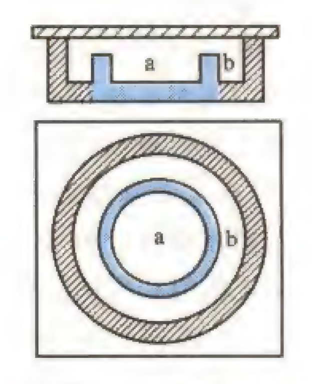
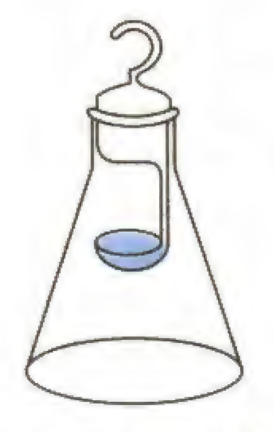


图 2－6　Conway 扩散槽
上：冠状剖面；下：俯视面
a：内池；b：外池


图 2－7　Widmark 瓶

收剂放于 Conway 碟的内池，释放剂和检材(如为半固体须加水成液体状)置于外池，用盒盖盖严 Conway 碟。当使用 Widmark 瓶时，检材是置于 Widmark 瓶中的小圆碟内，锥形瓶中放置吸收剂。

当将检材、释放剂和吸收剂等放置好后，可以轻轻摇动使释放剂与检材混合，于室温或略高于室温放置一段时间。在放置过程中毒物从检材溶液表面气化，扩散到内池吸收液上部，与吸收剂反应生成溶于吸收液的不挥发性产物。因为吸收作用，气相中毒物分压始终达不到与检材溶液平衡的蒸气压，毒物就不断从检材气化被吸收，达到与杂质分离的目的。

作定性分析时，将装有吸收剂、释放剂和检材的 Conway 碟放置一定时间，然后观察内池中吸收剂的变化。做定量分析时，应先取空白检材添加已知量毒物进行适合条件的摸索，并确定选定条件下的回收率进行中毒检材测定结果的校正。

吸收液种类根据待测毒物性质选定。如分离氰化物，可用氢氧化钠作为吸收剂。吸收液还可以用浸有分析试剂的滤纸条代替。

在扩散分离过程中，同蒸馏法一样，检材中挥发性杂质也可能进入吸收液中，干扰毒物的检测。因此，可以在检材中加入一些试剂来消除干扰。如在检材中加入乙酸铅-乙酸试剂，可以防止硫化氢对氰化物及醇类等检验的干扰。

扩散法操作简单，检材用量少，分离和定性分析可一次完成。常用于醇类、醛类、氰化物及卤代烃等毒物的分离和检出，但不适用于挥发性较差的酚类等毒物。

3. 驱气法与抽气法　驱气法与抽气法的分离原理与扩散法相似，也是利用化学试剂吸收从检材中气化的毒物。它们的区别在于驱气法和抽气法分别利用驱气或抽气的方法使得惰性气体或不影响毒物检测的气体(如空气、氮气、二氧化碳等)通过检材溶液及吸收液以缩短分离时间。在气体入口端通入气体的方法叫驱气法；在气体出口端抽气减压使气体通过检材的方法称抽气法。收集管中的吸收液可根据具体的毒物而定。例如：分离氰化物可用稀氢氧化钠溶液为吸收液。在气路中安装化学反应试剂也可直接对毒物进行检验。

4. 顶空气相色谱法　顶空气相色谱法(head space gas chromatography，HS－GC)是指在密闭的系统中，在一定的温度条件下，使气液两相达到平衡，达到平衡时挥发性物质在气相中的浓度与其在液相中的浓度有一定比值。若提高温度可增大挥发性物质在气相中的浓度。抽取平衡体系中的气体，注入气相色谱，同时与标准品对照进行分析。用这种方式进样的气相色谱法称之为顶空气相色谱法。用于分析的这部分气体称之为液上气体或顶空气体。一般将血、尿等液体检材或匀浆后的半固体检材置于耐压的玻璃瓶内，密闭后于一定温度下恒温加热，待气-液两相间达到平衡后，抽取一定体积的液上气体注入气相色谱进行检测。顶空气相色谱法适用于分析挥发性较大的毒物。

(三) 非挥发性有机毒物的处理方法

非挥发性有机毒物是指在通常情况下不易挥发的有机化合物，它们的分子结构通常较为复杂，相对分子质量亦较大，多数为固体。按照非挥发性毒物的酸碱性，大致可将其分成以下四类。

酸性有机毒物：这类毒物一般呈弱酸性，在酸性条件下呈游离状态，易溶于有机溶剂而不易溶于水。如巴比妥类、斑蝥素等。因为它们在碱性条件下易与碱成盐，故在碱性条件下易溶于水，不易溶于有机溶剂。

碱性有机毒物：这类毒物一般呈弱碱性，在碱性条件下呈游离状态，易溶于有机溶剂

而不易溶于水。如吩噻嗪类、苯二氮䓬类等安眠镇静药物及生物碱等。它们可以和酸成盐,故在酸性条件下易溶于水不易溶于有机溶剂。

中性有机毒物:如导眠能等。这类毒物因为呈中性,不与酸或碱成盐,因此不管在酸性或是碱性条件下,一般都不易溶于水,而易溶于有机溶剂。

两性有机毒物:这类毒物的分子结构中,同时存在酸性和碱性基团,因此与酸和碱都能成盐,如吗啡等。成盐状态的两性毒物,较易溶于水而不易溶于有机溶剂。这类毒物仅在一定 pH 范围内(如吗啡为 8～8.5)呈游离状态,此时较易溶于有机溶剂,不易溶于水。

另外,在农药、杀鼠药当中,有些属于酯类化合物不能按酸碱性原则分类,也采取如下的方法进行检材处理。

非挥发性有机毒物的检材处理方法是在不同情况将检材进行预处理后进行提取净化。其提取净化的方法主要有以下几种。

1. 液-液萃取法(liquid-liquid extraction) 物质在不同溶剂中有不同的溶解度。当两种互不相溶的溶剂共存时,溶质在此两种溶剂中分配的溶解量不同。利用这一性质将溶质从一种溶剂中转移至另一种溶剂中的过程称为液-液萃取。实际工作中,常用的互不相溶的溶剂是水和与水不混溶的有机溶剂,且两者的密度有所差别,易于分离。

血、尿等液态检材可用该法萃取。根据其中所含待检物种类的不同而采取不同的方式。液-液萃取的装置可根据检材量的大小选择常量萃取装置或微量萃取装置。

萃取可以将待测毒物从水相转移到有机相中去,也可使之从有机相转移到水相中,后者常称作反萃取或反提。萃取或反萃取的效率主要取决于物质在两相中的分配比。

(1) 分配比与萃取效率 当溶质在互不相溶的两种溶剂中溶解分配达到平衡时,两相中该溶质的浓度比称之为分配比(distribution coefficient),以 D 表示。

$$D=\frac{c_0}{c_A}=\frac{(m_0-m_1)/V_0}{m_1/V_A} \qquad (2-1)$$

c_0为有机相中该溶质的浓度;

c_A为水相中该溶质的浓度;

m_0为两相中溶质的总质量;

m_1为一次萃取后水相中的溶质留存质量;

V_0为有机溶剂的体积;

V_A为水的体积。

分配比因不同的溶质和溶剂系统而异。对同一溶质来讲,其分配比在固定的溶剂系统中随温度而改变。分配比还可因溶液中溶质存在状态变化而改变。溶质在溶液中可以缔合、解离、溶剂化等状态存在,这些不同状态的存在比例很大程度上随浓度而变化,所以分配比也可随浓度而变。在低浓度时,溶质状态的变化较小,浓度影响不大,可以将分配比看作是在一定温度范围内的一个常数。

若以 m_1 表示一次萃取后水相中留存溶质的质量,整理式(2-1)可得式(2-2):

$$m_1=m_0\times\frac{V_A}{V_A+DV_0} \qquad (2-2)$$

如果将一次萃取后含有溶质 m_1 的水相部分,再用相同体积的有机溶剂做第二次萃取,则二次萃取后水相中留存的溶质质量 m_2 为:

$$m_2=m_C\times\left(\frac{V_A}{V_A+DV_0}\right)^2 \qquad (2-3)$$

同样进行 n 次萃取后,留存于水相中的溶质质量 m_n 为:

$$m_n=m_C\times\left(\frac{V_A}{V_A+DV_0}\right)^n \qquad (2-4)$$

此时,有机溶剂的萃取率为:

$$f_n=1-\frac{m_n}{m_0}=1-\left(\frac{V_A}{V_A+DV_0}\right)^n \qquad (2-5)$$

由此可见，溶质在水相中的留存量是随萃取次数的增多而按等比级数递减的，萃取效率也随之提高。假设用作萃取的有机溶剂总体积相同，分次萃取的效率要远高于一次萃取的效率。

在用水作反萃取时，用水反提取后留存于有机溶剂中的溶质质量，也可由以上的方式推导出来。其效率也同样随萃取次数而按等比级数递增，不同的是分配比 D 的数值越小越有利于提高反萃取的效率。

在实际萃取中，由于两相溶剂不可能完全不混溶，被萃取液体积及其浓度也可能改变，故萃取效率不可能与以上计算值完全一致，但如果测得分配比后，可据此估算，以比较萃取方法的优劣。

（2）萃取溶剂的选择　根据相似相溶的原理，选用对被萃取物溶解度大的有机溶剂作为萃取溶剂，可提高分配比。一些难溶于有机溶剂的化合物，如季铵盐等，不宜用液-液萃取来分离，可改用液-固萃取等方法。因水相中常含多种其他组分，选用溶剂时还应考虑到尽量能使那些不需要的组分不进入或少进入有机相，这就需要根据具体情况来选择适当的溶剂。一般常用的有机溶剂有：乙醚、氯仿、二氯甲烷、二氯乙烷、苯、醋酸乙酯等。有时还需采用两种或三种溶剂按一定比例混合后用作萃取溶剂。某些沸点较高的溶剂，萃取后，浓缩所需温度较高，可能会使热稳定性差的毒物受损失，故不宜用作萃取溶剂。

（3）萃取方式及装置　萃取可采用一次、多次或连续萃取等方式。检材中待检物的含量高，且毋须定量时，可用一次萃取。每次用一定量有机溶剂进行多次萃取是最常用的方式。一次或多次萃取都可使用分液漏斗、具塞试管或其他易于溶液混合、分层的器皿。将两相液体置于同一器皿中，密塞，充分振摇萃取后，静置或离心使二液相分层，再将两液相分开。萃取过程中可能发生乳化，乳化现象是指两相交界处分层不清晰或无法分层。乳化问题可通过长时间静置、盐析、加破乳剂或高速离心等办法解决。

连续萃取是一种反复循环萃取的方式，需用特制的玻璃仪器，加入检材溶液和萃取溶剂后，通过加热使萃取溶剂不断蒸发冷凝，再通过水相进行萃取。其优点是避免多次萃取的繁琐操作、减少有机溶剂的用量、避免乳化发生等，但费时较长，不宜使用混合溶剂，也不宜用于反萃取。连续萃取器有两种，分别适用于轻溶剂萃取和重溶剂萃取（图2－8）。

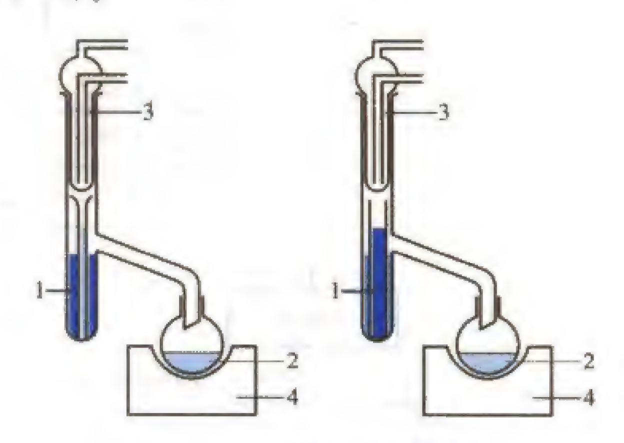


图 2－8　液-液连续萃取器图
左：轻质有机溶剂萃取装置　右：重质有机溶剂萃取装置
1. 被萃取检液；2. 有机溶剂萃取液；3. 冷凝器；4. 加热器

采用液-液萃取法应注意的问题：①避免使用毒性大的溶剂；②减少乳化；③萃取完成后，有机提取液中多少含有一些水分，一般需要用少量无水硫酸钠等脱水剂脱水；④避免毒物与溶剂发生反应；⑤萃取后的溶剂在加热挥干浓缩时应防止毒物损失及燃烧事故。

2. 改良 Stas-Otto 法　当分析目标不够明确，或疑有多种毒物存在时，可采用改良 Stas-Otto 法进行分离萃取。

Stas-Otto 法是系统分离难挥发有机毒物的经典方法，尽管已使用了 100 多年，而且也存在许多缺点，但至今还是有一定的应用价值，在此作简要介绍。其基本原理与液-液萃取是一致的。首先用酸性乙醇浸泡检材，

使大部分杂质，尤其是蛋白质、脂质、糖、纤维素及一些无机盐成为不溶物过滤去除，而有机毒物则溶于酸性乙醇，然后将过滤所得的乙醇液蒸至糖浆状，再用无水乙醇溶解、过滤、蒸干再溶解，反复处理数次，提高乙醇浓度使大部分杂质除去，再制成水溶液，依次在不同酸碱性的条件下用有机溶剂萃取或反萃取，从而将毒物分成酸性、中性、碱性及两性等几类组分，净化后可分别进行检验或筛选。具体操作流程见图 2-9。

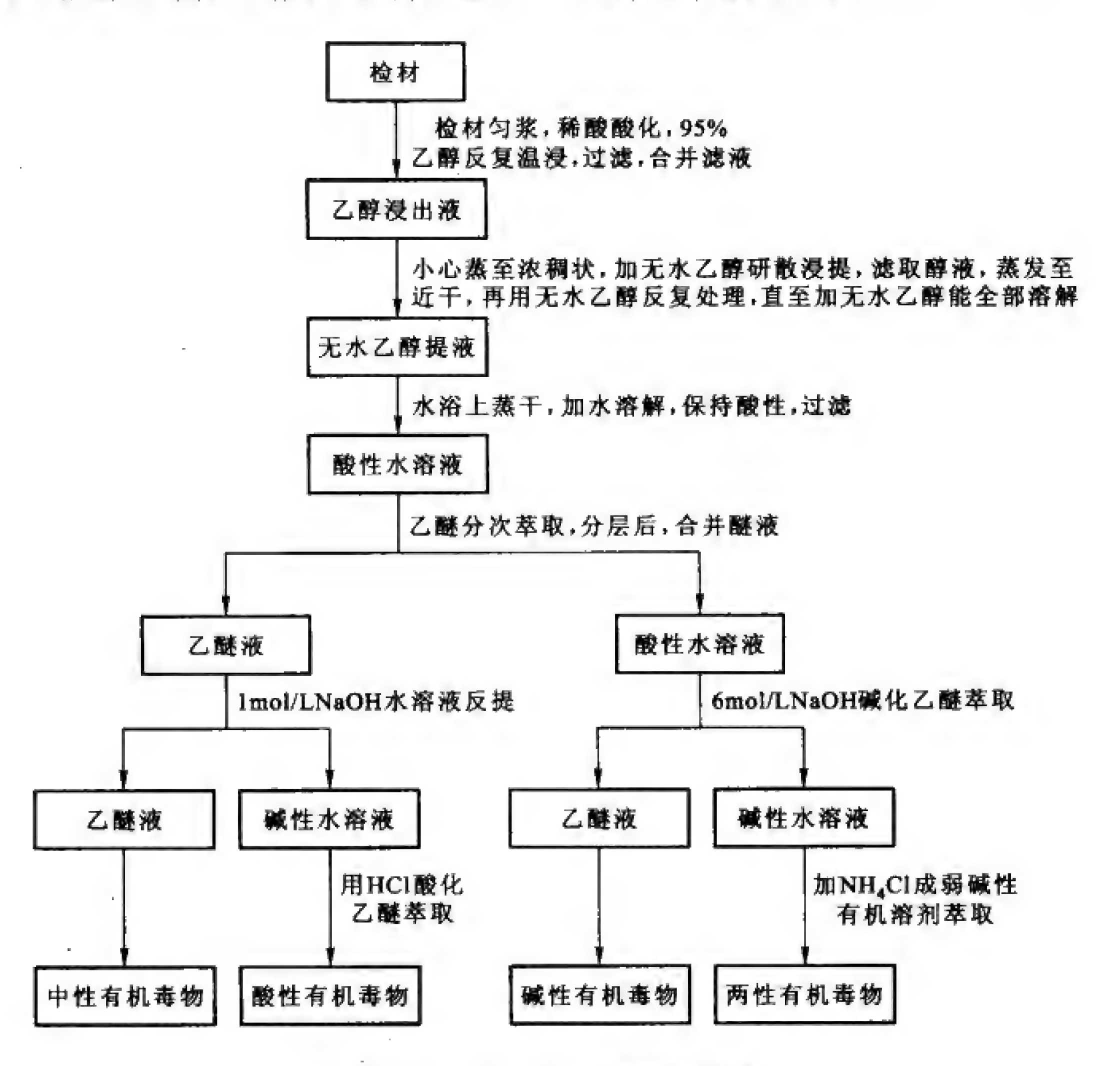


图 2-9 Stas-Otto 法操作流程图

3. 液-固提取法（liquid-solid extraction） 液-固提取法是目前应用非常广泛的检材处理方法，又被称为固相萃取技术。该技术是利用待检毒物与杂质在柱中固定相和洗脱液之间吸附、分配、分子大小等方面的差异进行分离。根据固定相填料的种类不同可分为正相固相萃取、反相固相萃取和离子交换固相萃取等。

(1) 正相固相萃取 固相萃取是采用极性固定相和中等极性至非极性的洗脱剂，适用于极性毒物的分离。固相柱内的填料多为硅胶，其上键合有极性基团，如丙氰基、二醇基、丙氨基等。在正相条件下，待测毒物在柱上的保留行为取决于毒物分子结构中的极性基团与硅胶键合相上的极性基团之间的相互作用。

(2) 反相固相萃取 反相固相萃取系统中，固定相的极性小于洗脱液的极性，即采用非极性的固定相和中等极性或极性洗脱液。该系统适用于分离非极性毒物。生物检材中

内源性物质的极性往往比较大，利用反相萃取系统能够很好地将待检物与杂质分离开。反相固相柱内的填料也多为硅胶键合相，但其键合的官能团是非极性的，如十八烷基、辛烷、苯基、二甲基丁烷、甲基、乙基、丁基等。在反相条件下，分析物在固相柱上的保留行为取决于化合物与硅胶表面官能团之间的相互作用。

（3）离子交换固相萃取　离子交换固相萃取适用于分离带有电荷的毒物，根据填料及用途不同又分为阳离子交换柱和阴离子交换柱。阳离子交换柱的填料通常为含有脂肪族磺酸基的键合硅胶，在一定的 pH 条件下带有负电荷，能够吸附样品中带正电荷的化合物。阴离子交换柱的填料通常是脂肪族季铵盐键合硅胶。季铵盐碱性很强，带有正电荷，能够将带负电荷的化合物保留在柱上而与杂质分离开。

利用离子交换固定相对样品中待检物进行萃取时，选择合适的 pH 条件是实现高效萃取的关键。选择的一般原则是使待检物和固相填料在所选的 pH 条件下同时带有电荷，且两者所带电荷相反。

除了上述三种类型的固相萃取柱外，还有的固相萃取是利用吸附作用或分子筛作用实现待检物的分离。这类固相柱的填料包括无键合硅胶、三氧化二铝、硅酸镁、大孔树脂等，适用于极性和非极性毒物的萃取。

现在商品化的固相萃取柱很多，其基本组成如图 2－10 所示。

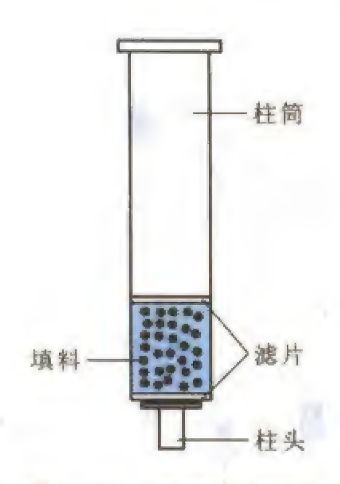


图 2－10　固相柱构造图

选择不同类型固定相时主要根据待检物的极性大小以及是否带有电荷等特性进行。例如，脂溶性较强的有机毒物宜溶于极性较强的溶剂后用正相柱净化，用极性较低的溶剂冲洗。相反，极性较高的有机毒物，则应溶于非极性或低极性的溶剂中，用反相柱净化，用极性较高的溶剂冲洗。萃取方式及具体操作过程如图 2－11 所示。操作时可以采取三种方式。一种是使待检物随上样溶剂先洗脱下来而杂质保留在柱上（图 2－11 中方式Ⅰ）；一种是先使杂质和待检物都保留在固相萃取填料上，再选择极性合适的洗脱液冲洗出杂质，而待检物保留在柱上，再用另一冲洗液将其洗脱（图 2－11 中方式Ⅱ）；还有一种是先使杂质和待检物都保留在固相柱上，再选择极性合适的洗脱剂冲洗出待检物而实现分离（图 2－11 中方式Ⅲ）。方式Ⅱ的具体操作流程如图 2－11 中Ⅳ。

整个洗脱操作过程可通过减压抽吸或加压方式提高效率。

固相萃取技术相对于液-液萃取而言具有很多优势，可以避免液-液萃取所带来的许多麻烦，比如相与相之间分离不完全甚至出现乳化、较低的回收率及产生大量的有机废液等，而且固相萃取技术操作简单，处理样品速度快，但应用该方法时，为了获得尽量高的萃取回收率和尽量减免杂质的干扰，需要根据分离对象的不同通过实验筛选合适的固定相材料、洗脱条件（包括洗脱所用溶剂、洗脱时间等）。

4. 固相微萃取（solid phase micro-extraction，SPME）　固相微萃取是在固相萃取基础上发展起来的新技术，近年来逐步得到广泛应用。其原理是利用特殊材料做成的萃取头（或纤维头）对待测物能选择性地吸附，通过将萃取头伸入检材中（浸入方式）或置于检材上部空间（顶空方式），使待测物吸附于其上后，将纤维头插入到气相色谱仪或液相色谱仪的接口，利用热解吸附或流动相

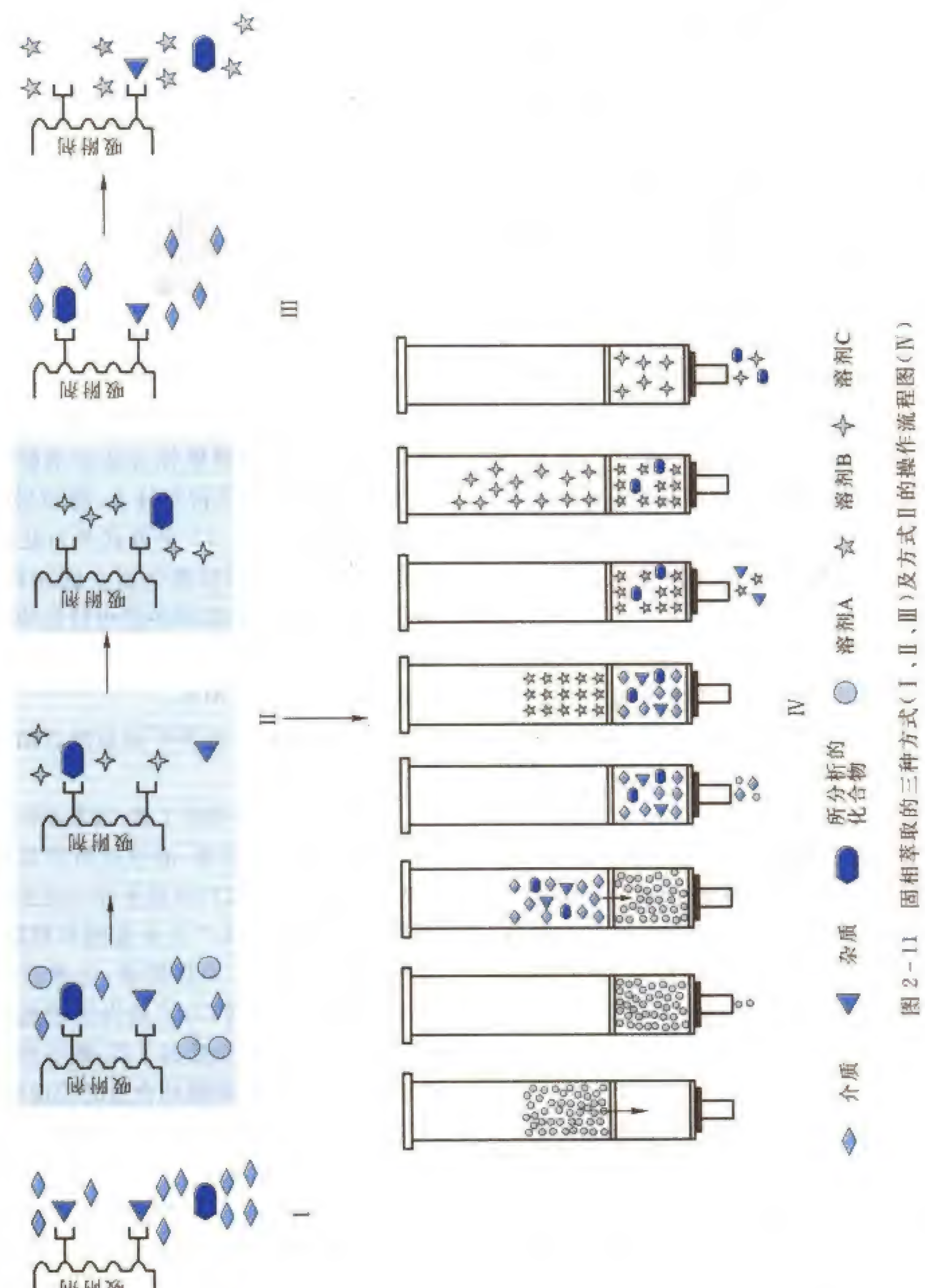


图 2-11 固相萃取的三种方式（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ）及方式Ⅱ的操作流程图（Ⅳ）

将待测毒物洗脱下来进行气相色谱（gas chromatography，GC）或高效液相色谱（high performance liquid chromatography，HPLC）分析。固相微萃取在一定程度上克服了一些传统检材处理技术的许多缺点，比如无需有机试剂，简单方便，快速，集采样、萃取、浓缩、进样为一体。该法的缺点是纤维头的使用次数有限，运用于一定数量的检材后便需要更换，而且由于纤维头存在吸附饱和性，使用时应加以注意。

SPME 所用的器械，如图 2-12 所示。其主要由纤维萃取头和手柄两部分构成，萃取头一般是一根一定长度的熔融石英纤维，表面涂布有不同种类的色谱固定相或吸附剂，接不锈钢丝，外套不锈钢管，纤维头在钢管内可伸缩。外接手柄用于安装或固定萃取头。

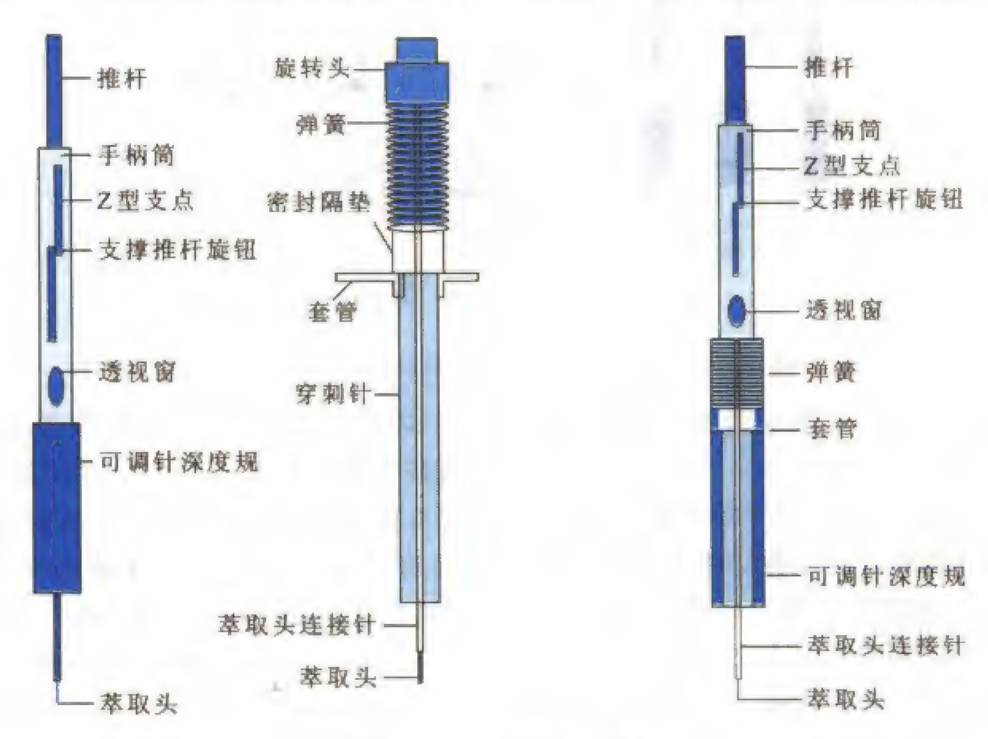


图 2-12 SPME 器械图

左：外观 中：连接 SPME 萃取头部分构造 右：SPME 的总装示意图

固相微萃取的核心部分纤维头有许多类型和规格，在具体应用时，主要根据分析物的相对分子质量、挥发性与极性来进行选择，类似于选择毛细管柱和液相色谱柱。非极性物质选择非极性涂膜材料，而极性物质选择极性涂层的纤维头。

为保证分析结果的重现性和准确性，除选择厚薄适当的纤维涂膜层而外，还需要严格控制其他操作条件，比如取样的时间和温度、萃取头浸入的深度、样品瓶或顶空瓶的体积一致性等。

固相微萃取技术的操作过程如下：将欲分离检测的样品置于有塞检瓶中，将钢管穿透瓶盖垫插入瓶中，推动手柄杆使萃取头伸出钢管，浸入检材溶液或留在检材液面以上的空间持续一段时间，让纤维头吸取待测毒物，抽回纤维头，将针管退出样品瓶，再进行 GC 分析或 HPLC 分析。供 GC 分析时，将 SPME 针管直接插入 GC 仪的进样口，推动手柄杆，伸出纤维头，待检物通过热解吸附脱离纤维头进入色谱柱；而进行 HPLC 分析时，将针管插入 SPME-HPLC 接口的解吸池内。将进样阀置于准备状态，推动手柄杆伸出纤维头，关闭密封头；再将进样阀置于进样状态，流动相进到解吸小池子内将纤维头上的样品洗脱下来，冲至色谱柱上。冲洗完成后

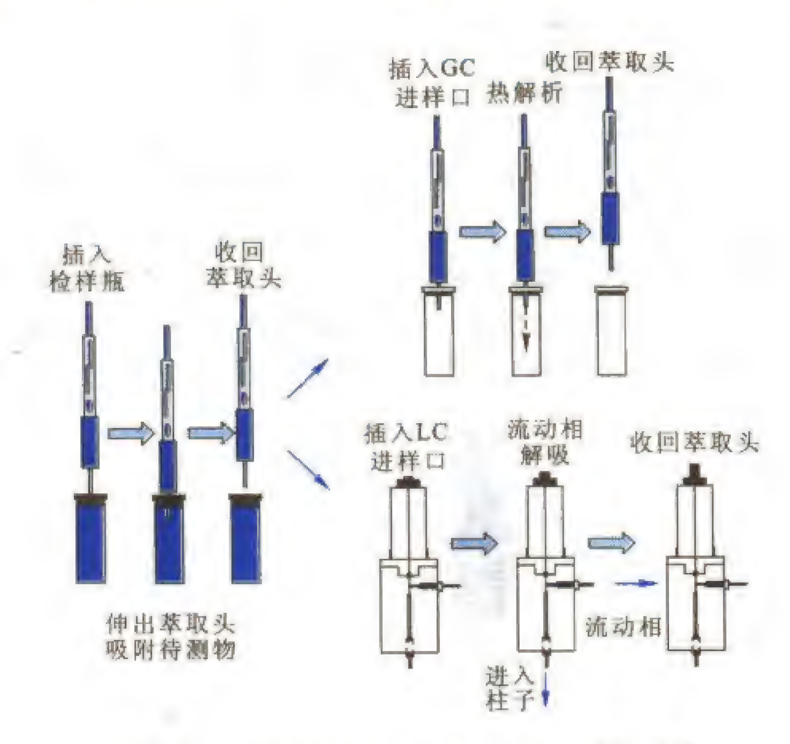


图 2-13 SPME-GC 及 SPME-HPLC 分析示意图

将阀回置到准备状态，抽回纤维头，移走针管。该过程由图 2-13 表示。

采用 SPME 技术，检材中待测物的浓度、顶空部分的待测物浓度及在纤维头上多聚物中所含的待测物浓度之间有一个平衡关系。吸附在纤维头上毒物的多少主要取决于纤维头上多聚物的厚度和毒物的分布常数。分布常数与毒物的相对分子质量及沸点有关。

若用液体多聚物作 SPME 附着材料，当达到平衡时，毒物在纤维头表面涂层上的吸附量直接与样本中的浓度有关。它们之间的关系可用以下的等式来表示：

$$m=K_{fs}V_{f}c_{0}V_{S}/(K_{fs}V_{f}+V_{S}) \quad (2-6)$$

m：涂层上所吸附的待检物的质量；

c_0：样本中毒物的初始浓度；

K_{fs}：毒物在涂层及样本介质中的分配系数；

V_f：涂层的体积；

V_S：样品的体积。

由上式可知，涂层上毒物的量与样品中毒物的初始浓度呈线性关系。

由于 SPME 所用的涂层对欲分离的毒物具有极强的亲和力，即这些待检物的 K_{fs} 值很大，因此，SPME 具有极强的浓缩富集作用，可提高方法灵敏度。当然 K_{fs} 不可能大到能使样本介质中的毒物被全部萃取出来，但只要达到相对平衡状态，并通过适当的校正比对，SPME 仍能用于准确检测样本中毒物浓度。

（四）金属毒物的检材处理方法

一些重金属进入人体后，经过吸收、代谢和转化，与人体内的蛋白质结合成难于解离的结合物（重金属蛋白质盐等），从而破坏人体正常的生理生化过程而呈现毒性。为了方便地分析这些金属，需要将呈结合状态的金属转化为无机化合物状态，常用的方法是有机质破坏法。所谓有机质破坏，就是将待测检材在一定的条件下与氧化剂作用，使所含的有机物，包括脂肪、蛋白质、色素等，全部分解成无机产物，转化为二氧化碳、水、二氧化氮等。

有机质破坏方法分为湿法和干法两种。湿法是在检材溶液中加入强酸及强氧化剂，然后加热分解检材中的有机质，常用的方法有硝酸-硫酸法，硝酸-高氯酸法，硝酸-过氧化氢法等。检材经过消化破坏最后得到的是含无机物的强酸性水溶液。干法是将检材蒸

干后在较高温度下使有机物炭化、灼热灰化并最后被分解成小分子无机化合物的方法。

干法有机质破坏法和湿法有机质破坏法各有优缺点，具体方法也有很多，它们分别的适用范围和分解效果也不相同。通常应该根据案情、检测目的、收受检材的性状及检材量的多少等条件来决定选择哪种金属毒物检材处理方法。具体应用将会在金属毒物章节详细阐述。

（五）水溶性无机毒物的检材处理方法

在法医毒物分析工作中，也常需要分析强酸、强碱、亚硝酸盐、草酸盐、氯酸盐、氟乙酸盐、硝酸盐、硼酸盐、溴化物、碘化物等物质，这些物质多是能溶于水的无机毒物，称为水溶性无机毒物。分离这类毒物的方法通常采用水浸法和透析法等。

水浸法是将检材剪碎与捣碎，用蒸馏水浸泡或轻微加热使待测毒物溶解于水中，然后进行过滤或离心，取其上清液进行分析。

透析法（dialysis）的原理是溶液的渗透现象。物质的渗透压只与溶液中溶质粒子多少有关，而与溶质的化学性质无关。溶质粒子越多，渗透压也越大。若将半透膜置于纯水和溶液之间，因为溶液的渗透压大，水就会向溶液中渗透，溶液的体积增大，浓度降低。与此同时，溶液中的小粒子溶质也可通过半透膜进入纯水。根据 Donnan 平衡原理，半透膜两边压力相等时才达到渗透压平衡。透析法的优点是可以将一些水溶性的小分子或离子化合物从组成复杂的检材中分离出来，并且不会改变这些小分子物质和离子化合物的化学性质。

两种检材处理方法的优缺点、适用范围及其具体的操作步骤将在水溶性有机毒物分析中详细阐述。

五、分离效率和验证

分离效率是指检材经过适当处理后，分离提取出待测毒物的量和检材实际含量的一个比值。分离效率的高低是衡量该检材处理方法好坏的一个重要指标。

常用来评价分离效率的方法有空白添加回收实验、随行参比法。

1. 空白添加回收实验　取不含有待测毒物的空白检材，在其中添加一定量的待测物，再选用适当的分离方法来处理该检材，测定提取液中该待测物的量，并换算成空白检材中的添加量和实际添加量求比值即可。

2. 随行参比法　选一种适当的化学纯品作为参比物加入检材中，与检材一起进行分离净化等处理。再用一恰当的方法同时测定参比物和待测物。根据参比物的回收情况来判定该方法的分离效率。若发现参比物分离效率过低或已经失踪，则说明分离净化过程有失误，所以也称为跟踪法。如果参比物的测得值可用作计算被测物测定值的参比依据时，则参比物又叫做内标（internal standard）。

小结

在法医毒物分析中，检材是极为重要的物证。用作于检验的检材大致可分为体外检材和体内检材。不同检材，其特点不同，进行检材处理、使用分析方法及对分析结果进行评价时，必须根据检材的特点来考虑。目前检材处理的方法有检材预处理，用于挥发性毒物的蒸馏法、扩散法等，用于非挥发性有机毒物的液-液萃取法、固相萃取法、固相微萃取法等。

Summary

Sample is crucial for forensic toxicology analysis, which can be divided into materials in vitro and in *vivo*. Now there are many disposal methods for samples, including distillation and diffusion for volatile poison, liquid-liquid extraction, sequential extraction, solid phase extraction and solid phase microextraction for nonvolatile poison etc.

思考题

1. 什么是体内检材？什么是体外检材？两者对中毒的法医学鉴定的意义如何？
2. 检材处理的基本原理是什么？
3. 为什么需要对检材进行前处理？
4. 检材处理方法的选择原则是什么？
5. 挥发性毒物的分离方法主要有哪些？其依据的原理是什么？
6. 非挥发性有机毒物的分离方法主要有哪些？依据的原理是什么？
7. 液液萃取法的原理是什么？
8. 固相萃取法原理是什么？有何特点？
9. 固相微萃取的原理是什么？
10. 能作为随行参比物的物质应具备哪些条件？

（四川大学华西基础医学与法医学院　廖林川）

第三章　分析方法概述

要　点	
定性分析	定性分析的目的是确定检材是否为某种药毒物、或是否含有某种或某几种药毒物。
定量分析	定量分析的目的是确定检材中毒物的含量。通常称之为含量测定或简称测定。
常用方法	形态学方法、动物试验方法、免疫分析法、理化分析法、仪器分析法等各类方法都有其优缺点及适用范围，在实际工作中应根据情况和分析目的选用合适的方法配合使用。
分析方法的验证	无论是建立一个新的分析方法还是运用已有的方法，进行可靠性验证是结果准确可靠的重要保证。
相关主题词	分析化学　定性分析　定量分析

第一节　定性分析与定量分析

法医毒物分析所使用的分析方法按照其分析目的可以分为定性分析和定量分析。

一、定性分析

定性分析(qualitative analysis)的目的是确定检材中所含毒物的性质，即检材是否为某种毒物或者其中是否含有某种毒物。法医毒物分析大多数时候是未知物的分析，事先并不知道检材中是否含有毒物或毒物的种类是什么。但是定性分析也并非盲目分析，往往是在综合考察案(事)件各方面情况的基础上推测出可能的毒物种类，然后采用相应的分析方法进行定性鉴别和确证。定性分析要求选用的方法灵敏度高、准确可靠。为保证定性判断准确，应尽可能选用多种方法。

若怀疑检材中存在多种毒物，可选用多种方法分别对各毒物进行定性鉴别，而且需确定该方法在检验某种毒物时不受到其他毒物的影响；也可选用尽可能适用于多种毒物的方法。

各种分析方法因其原理、操作方法以及应用场合不同，在实际工作中具有不同的效用。主要有分类效用和确证效用两种。具有分类效用的方法一般仅能够判断检材是否为某类毒物或是否含有某类毒物。同一类别的毒物往往因为其官能团或母体结构一致而具有某种相同或相似的特性，具有分类效用的方法正是依据这一原理对不同种类的毒物进行定性鉴别，故这些方法也称为类别试验。由于根据类别试验结果仅能作出类别判断，所以该类方法常用于预试验(preliminary test)和筛选试验(screening test)，为法医毒物鉴定工作提供依据和方向。所谓预试验就是在法医毒物分析方向尚不够明确的条件下运用一些类别试验探索检验方向。而筛选试验是指在分析方向比较明朗的情况下使用的类别试验。

预试验和筛选试验并没有严格的界限，

有时也将两者统称为筛选试验。一些组成简单的检材，如药片、药水、食物、可疑物等，往往可直接用于预试验或筛选试验，而体液、内脏组织等组成复杂的检材多需经过处理制成待检液后才能用于筛选试验。

具有确证效用的定性方法能够确实无误地判断出检材中是否含有某毒物或是否为某毒物，又常称为确证试验。这类方法往往能够反映某一毒物区别于其他毒物的特有属性，从而能确定检材中所含毒物为某物质而不是相似的或同类的其他物质。一般而言，具有确证效用的方法多为仪器分析方法，尽管如此，也可利用中草药在形态上的特点或含有的独特成分，通过观察或简单试验为确证提供依据。虽然确证试验往往都具有很强的专属性，但在实际运用时，应考虑检材组成复杂、所含杂质多且性质可能与待检毒物类似、检材中毒物含量少等因素，并考虑方法的专属性和灵敏性，为结果判断提供充分的认证依据。

无论采用哪种方法进行定性分析都应保证结果的准确可靠，避免假阳性或假阴性结果的出现，因此在检验的同时做阳性和阴性对照试验非常必要。阳性对照试验(positive control test)即以待检毒物的对照品作为检验对象，采用同样的检验方法进行的试验，以验证该方法在该检验条件下是否有效。阴性对照试验(negative control test)是以空白试剂或模拟样品的基质作为检验对象进行的试验。通过阴性对照试验验证整个检验过程中是否只有待检物能产生阳性结果。后面有关章节中将具体介绍验证方法。

二、定量分析

定量分析(quantitative analysis)的目的在于确定检材中某毒物的含量，通常称之为含量测定或简称测定。定量分析必须在定性分析的基础上进行。

在法医毒物分析中，并非所有检验都必须做定量分析，比如：①一些不可能是人体正常成分，也不可能通过正常饮食或服药带入人体的毒物，或该毒物中毒剂量低、检测困难，一旦检出就不一定必须做定量分析；②检材本身不适用于含量测定，如胃内容物；③根据案情或定性检验结果即可作出明确判断，则没有测定含量的必要。

有时定量分析则是必需的，如有些毒物需达到一定剂量才会导致中毒，而低于此剂量可能为正常用药剂量或人体正常成分含量，此时定量分析对于中毒鉴定至关重要。亦有一些情况需用含量来区分违法犯罪行为的性质、当事人的法律责任或罪名归属，如毒品的定量。

一般而言，用于定量分析的方法都应该能够在待测物浓度和响应值之间建立良好的计量关系，即响应值的高低能够反映试液中待测物的多少，而且根据测得的响应值和一定的函数关系能够计算出待测物的量。测定结果以检材中毒物的相对含量或相对浓度表示，可以以质量分数等方式表示[①]。进行结果计算时，应注意有效数值的取舍。

有些情况下无需知道检材中某毒物的确切含量，只需要知道其含量是否大于或小于某一限度值，或在某个浓度范围内，这种定量分析又称为限度检查或半定量分析。如运用薄层色谱法作检测时，将检材溶液的斑点与一定浓度对照品溶液斑点的颜色深浅相比较，来判断检材中该毒物的量是否低于或高于该对照品溶液。

定量分析时同样应该注意干扰的排除以保证结果的准确，同样可以通过阳性对照试验或阴性对照试验来评价方法的可行性和可靠性。

定性分析和定量分析的目的是不相同

① 国外文献有用 ppm、ppb 等表示含量为 10^{-6}、10^{-9}。ppm、ppb 为非法定计量单位，可根据情况换算为相应的单位。

的，但是定性分析和定量分析并不是截然分开的，定性分析是定量分析的基础，定量分析必须在定性分析的结果上进行才有意义。由于法医毒物分析工作的系统性以及现代分析技术的不断发展，一些常用的分析方法都同时具有定性和定量的功能，只是侧重不同。

第二节　分析方法类别

法医毒物分析的方法多种多样，基本上都是依据不同物质具有不同特性的原理而进行的，常用的方法有如下几种：

一、形态学方法

形态学方法就是通过观察检材的外观形态和显微形态从而进行检验的方法。在法医毒物分析中，形态学技术主要用于对一些体外检材的辨认，为进一步检验提供方向和线索。一些毒物在形状、大小、颜色、气味、包装等各个方面具有一定的特征，了解这些特征对于收集有用检材或物证，确定检验方向，选用合适的检验方法很有帮助。如工业用五氯酚钠为粉红色鳞片状结晶，有刺激性气味，常出现在鱼群大量突然死亡的案例中。形态学方法不仅包括对外观形态的观察，还包括利用显微镜观察毒物的组织构造、细胞以及内含物等显微形态。形态学方法多用于预试验和筛选试验，而无法确定检材中的毒物成分。在法医毒物分析的实际工作中，一些天然毒物中毒案(事)件的检验往往会运用到形态学方法。这方面内容将在第九章中详细介绍。

二、动物试验方法

动物试验方法(animal test)是以动物为试验对象，利用某些毒物具有较强生理作用，通过观察给药后动物产生的毒效或药效反应来检验鉴别毒物的方法。

动物试验法通常多用于体外简单检材，试验时可将检材通过适当方法简单制样，然后采用合适的途径作用于合适的动物，观察并记录动物的表现，还可进一步解剖观察组织的病理改变。动物试验的结果能够为初步判断检材中是否含毒物或者是否含有某些类别或某种毒物提供依据。

法医毒物分析工作中遇到的毒物很多都具有特殊的中毒表现，因此通过观察给予可疑检材后动物的症状，可初步确定检验方向。特别是对于无法从情况调查、中毒症状、解剖发现等方面获得线索，通过其他筛选方式也不能明确检验目的，而检材组成又相对比较简单的情况，动物试验往往是很有效的预试验方法。例如，怀疑被投毒的饮食物，可分取适量灌服动物；药液或水溶性药物也可经处理后给动物腹腔注射后观察。若动物表现正常，一般可消除疑虑；若出现中毒或死亡，可根据症状考虑进行下一步试验。

给予动物可疑检材的方式有灌胃、皮下注射、静脉注射等，一般根据可疑毒物的毒性机制，选择最能表现其毒性的方式。试验操作时应避免操作不当造成动物意外死亡或出现其他症状。

在确定给予检材的剂量时必须考虑到可疑毒物的中毒剂量以及动物的体重、种属、个体和动物对毒物的耐受性等情况。

动物试验具有简单、直观、快速的优点，但其结果容易受到一些因素影响。主要影响因素有动物(种属、个体)、饲养条件(包括动物居所的温度、湿度，环境的声、光、电、磁场、饲料、饲养密度等)及给药方式等。因此进行动物试验时，必须严格控制试验条件，避免假阳性或假阴性结果的出现，同时还应做空白对照和阳性对照试验。

一般而言，动物急性中毒试验的结果不能作为辨别毒物的唯一依据，需结合化学试验或仪器分析进行确证。

以下为利用动物试验进行毒物检验的

实例：

猫瞳孔变化情况（实例 3－1）：

当怀疑检材中含有阿托品时，可以通过适当方法提取处理检材，将提取物滴入猫的一只眼睛，与另一只眼睛对比观察瞳孔变化情况，若出现瞳孔明显扩大为阳性。空白眼以生理盐水对照。

士的宁青蛙毒性试验（实例 3－2）：

利用青蛙毒性试验判定检材中是否含有士的宁。此为士的宁的专一识别反应。具体操作如下：检材中的生物碱经过提取、过滤、蒸干后复溶于水中，将此液注入蛙背后淋巴囊内，若检材中有士的宁或马钱子碱存在，则青蛙在数分钟或半小时内出现间歇性、强直性四肢肌肉痉挛，蛙体及后腿伸直，前肢合抱等症状。在痉挛间歇期中稍给予声音或光线刺激，会立即再次引起全身性的强直痉挛。

三、免疫分析法

免疫分析法（immunoassay）是利用抗原抗体竞争性结合的原理进行检测的方法。具有灵敏度高、选择性强、操作简便、省时及耗材少等优点，目前已经成为药毒物分析中常用的检验技术。

（一）基本试剂

免疫分析方法必须具备三种基本试剂：特异抗体、标记抗原和未标记抗原。

特异抗体是指一种特殊的蛋白质，其分子结构上具有一些结合点，能够专一识别毒物的一些特征结构而与毒物结合生成抗原-抗体结合物。标记抗原是指标记的待检毒物对照品或标记的与待检毒物性质相似的物质。标记抗原可提供能被检测的信号，如荧光、放射性等。未标记抗原即待检毒物或其对照品。

标记抗原的量往往要多于特异抗体能结合的量。

（二）基本原理

利用免疫分析法进行检测，未加入待检毒物（非标记抗原）时，抗体完全与标记抗原结合生成复合物，加入待检毒物后，待检毒物也会竞争性地与抗体结合，由于抗体分子上结合点数量有限，抗原抗体之间结合具有饱和性，因此标记抗原与抗体之间的反应将受到抑制，两者之间的结合率减小（这种现象称作竞争抑制作用）。

当标记抗原和抗体的量一定时，待检毒物的量越大，生成的复合物中标记抗原的含量就越低。选择合适的方法检测复合物中标记抗原的量就可计算待检毒物的含量。

免疫分析法中用到的抗原-抗体反应必须满足以下条件：①标记抗原与未标记抗原必须是相同的生物活性物质；②所加入的标记抗原和抗体的量必须是固定的；③标记抗原与未标记抗原的量之和应该大于抗体的结合位点；④未标记抗原、标记抗原与抗体必须处在同一反应体系。

目前一些商品化的检测试纸和试剂盒，将标记毒物和抗体固定于试纸或试剂盒的某一区域，可快速检测尿、血等生物检材中的毒物。

利用免疫分析法时，一些与待测物同类或结构相近的化合物可能产生交叉反应，导致假阳性，所以免疫分析法一般常用于预试筛查，不能作为确证方法。

（三）方法类别

根据标记抗原中标记物质以及检测方式的不同，免疫分析法可分为放射免疫分析法、酶免疫分析法以及荧光免疫分析法等。

1. 放射免疫分析法是以放射性核素标记抗原，该技术具有灵敏度高、特异性强、样品用量少等特点，适合复杂样品中微量或痕量物质的分析。

2. 酶免疫分析法是以酶作为标记物的

免疫测定方法。该法目前在毒物分析中运用比较广泛，已经用于苯二氮䓬类、巴比妥类、苯丙胺类、可卡因类、大麻类等多种毒物的筛选。

3. 荧光免疫分析法即采用荧光标记毒物，该法具有灵敏度高、无辐射伤害、无环境污染及容易实现自动化分析等优点。

四、理化分析法

理化分析法是指利用物质的物理或化学性质来达到分析目的的方法。这类方法普遍地应用于毒物分析，尤其是在缺乏仪器设备条件的情况下，或者希望通过简单的操作就能迅速作出筛选判断的时候，这类方法能起到别的方法起不到的作用。毒物分析工作中得到的检材量往往有限，而其中所含毒物也常为微量，故此处列举几项能用微量试样进行分析检测的理化分析方法。

（一）物理常数的测定

某些物理常数是物质的属性，具有专属性，可以作为定性的依据。这些常数包括熔点、沸点、折光率等。通过测定待测物质的物理常数来进行定性的方法具有用量少，不改变化学组成和不损失试样的优点。但是这种方法只能用于纯物质，而检材系纯物质的时候不多，故在毒物分析中应用较少。

（二）微量化学反应

微量化学反应法（microcolor reaction）是指在微小的反应器皿如载玻片上、微量试管、毛细管中进行的，利用毒物的结构或所含基团的性质，通过化学反应进行预试验或筛选的方法。微量化学反应法所用的试剂和检材量较少。

用于毒物检测的反应一般应能产生明显的反应现象，如有的反应能生成沉淀或结晶，有的反应能改变溶液的颜色，有的反应能产生气体。反应的结果作为判断的依据，可保留的反应产物还可作为物证。微量化学法操作简单，所用检材少，易于掌握，便于实施，适用范围广。

能发生颜色变化的化学反应主要有酸碱反应、氧化还原反应、络合反应等。这些反应通常可在白瓷反应板上进行，也可以在微量试管中进行并在白色衬底上观察。有时还可以将试液和反应试剂先后滴加在滤纸上，观察纸上斑点颜色的变化，此反应称为斑点试验。有时该种试验也可通过如下方式进行：用滤纸蘸取少许待测物溶液，用气体试剂熏蒸，或者若待检物是气体时可用染有试剂的滤纸进行熏蒸试验。

沉淀反应常在微量试管或者载玻片上进行。在载玻片上进行反应便于直接在显微镜下观察沉淀的颜色和晶型，这类反应又称为显微结晶试验。

五、仪器分析法

仪器分析法（instrumental analysis）是利用能反映药毒物某些固有理化性质的仪器来达到分析目的的方法。常用的方法有紫外分光光度法、原子吸收光谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、薄层色谱法、毛细管电泳法、质谱法及多级色质联用法。

随着科学技术的突飞猛进，尤其是电子科技的飞速发展，越来越多的分析仪器相继问世。许多以前手工操作或肉眼观察不可能进行的分析工作都逐渐可以通过仪器来完成。各类分析仪器的共同特点是：①性能强，功能多，精密程度高；②消耗试样少，检测灵敏性好；③自动化程度高，操作较简便，费时短；④检测结果客观可靠等。但是仪器分析也具有局限性和不利之处，如：①仪器设备昂贵；②仪器构造精密复杂，使用保养要求高，发生故障时修复难；③对仪器的使用人员要求高，须经训练具备一定的理论基础和实践技能；④可因使用不恰当，或仪器失准等因素而得出错误结果等。而且一种仪器往往只能解决某一方面的问题，还必须有一些手工操作配合，所得到的分析结果也要靠人的智慧

进行辨析论证。

用于分析检测的仪器有很多，比如紫外光谱仪、红外光谱仪、气相色谱仪、高效液相色谱仪、气相色谱/质谱仪，液相色谱/质谱仪等。各种分析仪器的用途亦不相同。在法医毒物分析工作中常用到的两类仪器为光谱分析仪器和色谱分析仪器，两类仪器结合运用常可解决很多问题。

近年来质谱技术发展快速，越来越多类型的质谱仪相继问世，色相色谱/质谱联用仪器越来越多地运用到毒物分析的领域中。它结合了色谱的分离功能和质谱的准确定性功能，能用于复杂体系的定性定量分析，尤其是多级色相色谱/质谱联用在提高准确性和灵敏度方面发挥了重要作用，逐渐成为法医毒物分析的主要手段。

上述各类方法都有其优缺点及适用范围，在实际工作中应根据情况和分析目的选用合适的方法配合使用，对实验结果应反复验证。下面将上述几种方法简要列表如下(表3-1)：

表3-1 常用毒物分析方法

方法类别	方法描述	方法特点
形态学方法	利用检材的外观形态或显微形态特征进行辨认、比对	简便、快速，能在一定程度上起到筛选和鉴别的作用
动物试验法	利用毒物的毒性及毒理作用机制，观察染毒试验动物是否死亡或其中毒表现	简便易行，结果直观，可初步筛查、判断毒物类别
免疫分析法	利用抗原抗体的竞争性结合反应检测毒物	操作简便，检测省时，灵敏度高，选择性强，耗材少，但需专用试剂盒，且试剂都有一定的时效
理化分析法	利用毒物的各种理化性质进行鉴别检测，如理化常数的测定、显色反应、沉淀反应等	操作简单，对设备要求不高，结果直观，但选择性差，准确度低，往往用作筛查试验或预试验
仪器分析法	主要包括利用毒物光学性质的光谱分析法，利用毒物色谱行为差别的色谱分析法，根据物质的相对分子质量、断裂碎片质量大小及结构特征信息的质谱分析法	灵敏，准确，自动化程度高，适用范围广，但仪器设备昂贵，对使用人员要求较高，可因使用不当或仪器失准而得出错误结果

第三节 分析方法的可靠性验证

在进行法医毒物分析时，所用分析方法可能是经典的或已公认的方法，结合实际情况调整后使用，也可能需要重新建立方法。除了承担检验工作的人员应该对所用方法的适用性、操作细节、现象的辨认和处理、结果的辨析等有充分把握外，还需对分析方法本身进行验证，以保证分析方法的科学性和可行性。方法验证是通过设计一些合理的试验来实施。对于需要经复杂处理过程的体内检材的分析，更应重视验证工作。

一、验证分析方法的主要项目

验证内容包括纯度和回收率、方法的专属性、准确性(准确度和精密度)、灵敏性(检测限和定量限)、线性与检测范围、耐用性等。

1. 纯度和回收率　回收率(recovery)是指对检材进行处理后，所得到样品中待测物含量与分离净化前检材中原有待测物实际含量之比。纯度(purity)是指经分离净化后所得试样中杂质含量的多少，杂质含量愈低，纯度愈高。纯度和回收率反映分离净化效能。一般分离净化的步骤多，纯度高而回收率低。

如果片面追求高纯度，使本来能被检测到的毒物无法检出则可能造成漏检。但是，也不能单纯为追求回收率而忽略必要的处理，使杂质过多干扰检测，影响结果。

需要说明的是，有时一个完整的分析方法也包括对检材进行处理，因此将纯度和回收率作为验证项目之一。

2. 专属性　专属性(specificity)系指在可能存在其他非待测成分的情况下，所用分析方法能够准确地、选择性地检出待检物质的特性，又称为选择性或专一性。一般而言，专属性越强的方法定性的准确度也越高。毒物分析中检材组成复杂，能产生干扰的成分主要有内源性杂质、代谢产物及同时服用的其他物质等，要求所用的方法应具有较强的选择性，能够特异地检出其中待检毒物而不受到其他成分的干扰。

验证方法的专属性可以通过比较待测毒物及其代谢物的对照品、空白检材和模拟生物检材(空白生物基质中添加对照品)的检测信号来实施。对于色谱法，还可以通过检测色谱峰纯度及分离度来验证方法的专属性。

3. 方法的准确性　方法的准确性(accuracy)包含定性的认证准确性和定量测定值的准确性。

(1) 认证准确性　指检材中确实存在的，而且是应该检识的毒物，必须得到认定的属性，并且能证实确实为该物质而不是其他物质的属性。被认定的物质必须是检材中原来就存在的，并非来自别处。

在分析过程中，试剂、器皿或仪器中的杂质可能会对分析结果产生一定干扰，这种干扰分为阳性干扰和阴性干扰两种。阳性干扰是指干扰物质能产生与待检物相似的检测结果和增高测量值。阴性干扰是指由于干扰物的存在而使本应得到的阳性结果无法显现或使测量值降低。

(2) 测定值的准确性　包含准确度和精密度。

① 准确度是指测得值与真实值之间接近的程度。两者的差值称为误差(error)。误差小，方法准确度高。分离净化过程中待检物的损失常使测得值比真实值低，而杂质的干扰会增大或降低结果值，从而造成误判。由于检材中所含毒物的真实值往往是未知的，所以准确度的测定通常使用模拟检材测定，用测得的浓度与添加的毒物浓度比较计算求得。结果一般用相对回收率表示，回收率越接近100%表明分析方法准确度越高。

② 精密度(precision)是指在规定的测试条件下，同一样品，经多次重复检测所得结果之间的接近程度(离散程度)。方法的精密度反映一个分析方法的可操作性，是方法验证的基本要点之一。精密度是用同一方法对同一样品进行多次测定所得的数值经过统计学方法计算得到的。

精密度常以多次测得值的标准差(*S*)或相对标准差(*RSD*)表示，见(3-1)式和(3-2)式。

$$S=\sqrt{\frac{\sum(\overline{X}-X_i)^2}{n-1}} \qquad (3-1)$$

$$RSD=\frac{S}{\overline{X}} \qquad (3-2)$$

式中：X_i 表示第 i 次的测得值，$\overline{X}$ 表示 n 次测量的平均值，n 表示测量次数。

相对标准差值愈小精密度愈高，说明方法的重现性好。其值越大，则各测量值之间愈分散，方法的精密度越低，多由于测定方法中的一些可变因素无法控制造成。分离净化过程中的可变因素多，用处理后的同一测试液进行多次测定的精密度常比用同一检材分多份同时处理后测定的精密度好，所以测试液的测定精密度不能代表整个检测方法的精密度。

精密度高不能说明测得值的准确性好，准确度好而精密度差，结果仍难以可信，所以测定方法应该使精密度和准确度都能达到一定要求。

4. 灵敏性　又称灵敏度(sensitivity)。

检测灵敏度常以检测限或定量限表示。检测限(limit of detection,LOD)系指检材或检样中待测物能被检出的最少量或最低浓度,但不一定要准确定量。通常用μg、ng、pg等质量单位表示检测限,或者用单位检材中的待测物的量来表示,如写作μg/kg、ng/mL或相对含量(1∶1 000)的形式。检测限必须在保证检验方法有确定的操作步骤和检材试剂用量准确的条件下才有实际意义。定量限(limit of quantitation,LOQ)指检材中待检毒物能够被定量测定的最低量,其测定结果应具有一定的准确度和精密度。两者的区别在于前者属于一种限度检验效能指标,而后者是一种定量分析的效能指标。定量限的结果常以相对浓度值表示。

定量分析的灵敏度是指方法的响应值随待测物含量的变化是否敏感,也即响应灵敏度。若待检物含量 X 从 X_1 增减至 X_2,其变量为 dX,其响应值 R 相应地从 R_1 增减至 R_2,其变量为 dR。响应灵敏度反映了响应值改变量 dR 随着待检物含量的改变量 dX 增减的程度。一般而言 dR/dX 的绝对值愈大,分析方法就愈灵敏。

在仪器分析中,常用信号值(signal)和噪音(noise)的比值(即信噪比S/N)来确定检测限或定量限。一般认为信噪比为3时的样品浓度作为检测限,而信噪比为10时的样品浓度作为定量限。

5. 线性与线性范围　线性(linearity)系指在设计的测定范围内,测试的响应值与试样中待检物浓度直接呈正比关系的程度。线性范围指能达到一定精密度、准确度和线性,测试方法适用的高低浓度或量的区间。线性和线性范围的确定通过作图法(响应值 Y/浓度 X)或计算回归方程($Y=aX+b$)来研究建立。最常用的回归方法为最小二乘法或加权最小二乘法。一般以回归方程的相关系数(r)来评价线性的好坏。用所选方法进行检测时,试样中待检物的浓度应该在线性范围区间内。

对于生物检材中毒物的检测,检验的同时还应该做随行标准曲线。通过随行标准曲线来判断检验时方法是否可行以及操作是否有误。同时对于定量分析而言,随行标准曲线是定量的基础。标准曲线同样应该涵盖全部待测毒物的浓度。

6. 耐用性　分析方法的耐用性系指测定结果在分析条件出现(微小)变动时不受影响的能力。如果测试条件要求苛刻,则应在方法中写明,变动因素包括待检物的稳定性、样品的提取次数、提取时间等。液相色谱分析法中,典型的变动因素有:流动相组成,pH,不同厂家、不同批号的同类型色谱柱,柱温,流速等。而气相色谱法中,典型的变动因素有色谱柱、不同类型的担体、柱温、进样口和检测器温度等。一个耐用性好的检材处理和分析方法应该是即使上述因素发生微小变动,检测结果不会出现太大变动。

二、可靠性验证的实施方法

可靠性验证的实施方法主要有以下几种:

(一) 模拟试验

分析方法的效能不可能在实际检验工作中得知,只有采取模拟的办法考证,称为模拟试验。

1. 动物模拟试验　一些毒物进入机体后,是否能从体内检材中检测得出来,应先了解毒物进入机体后的吸收分布和代谢等情况。为此常需用动物来做模拟试验。尤其是对一些毒性强、入体后很快变质或消失的毒物更有必要。动物模拟试验通常是选用一定数量适合于试验的某种动物,以适量毒物使之中毒成为中毒模型,而后进行实验研究予以验证。

2. 检材模拟试验　是选用与实际检验材料或试样相同或尽可能相近似的材料作为模拟材料,对所用检验方法进行验证的试验,

如可用不含待测物的组织、血浆、尿液、食物饮料等通过添加待测物的对照品作为模拟检材。对用于体内检材的分析方法的验证，只能对那些确有可能被检测的毒物或代谢物进行验证，若是对入体后会很快分解，不能检测到的毒物，如乌头碱，就难以证实该方法用于检验体内检材时的可靠性与可行性。

模拟试验可对整个检测方法的效能进行验证，亦可对其中各项操作步骤的效能进行验证。用模拟材料做试验是常用的验证方法。

（二）空白试验

空白试验是在实行一个检测方法时，除了不加入已知待测物外，其他所用检验材料、溶剂、试剂、器皿、设备、操作步骤等，都完全与检验方法相同，也称为空白对照试验。其目的主要是验证所用物品和操作过程中是否引入有干扰的物质，或是否存在影响结果判断的物质。空白试验是保证检测方法可靠性的重要措施，无论是在验证检测方法，或是在实际案件的检验工作中都应随时进行空白试验。

1. 单纯空白试验　是指不用检材的空白试验，只用来验证试剂和操作的可靠性。可靠性高的方法，其单纯空白试验结果不应该有待测物的表现，包括定性的检识特征和测定的信号数值，还不应该有妨碍检识和测定的现象。

2. 模拟空白试验　是用模拟材料作检材的空白试验。在单纯空白试验的基础上验证是否有来自检材的干扰因素或存在某些可以设法排除的干扰。

3. 干扰物空白试验　在上述两种空白试验中，预先加入性质与欲检测物相似的物质或可能产生干扰的物质。根据实验结果判断所用检测方法能否区分欲检测物与所加入物质之间的不同效应，用以验证方法的鉴别效能。

（三）已知对照试验

已知对照试验是在上述空白试验中预先加入一定量欲检测物的对照品实行验证的试验。目的是验证所用方法的可行性和可靠性。与上述空白试验有同样重要的意义，并常与之同时实行。

1. 定性验证　加入对照品观察试验结果出现应有的特征性现象以验证检识的可靠性；逐步减少加入量直至不出现识别特征以测知检出灵敏度。可根据不同目的进行验证：①单纯用对照品进行试验，用以识别所得的检识特征和检出灵敏度。可供与文献记载的描述和数值核对。②在模拟材料中加入对照品试验，与上法结果核对，用以验证检材及其处理过程对检识和灵敏度的影响。③分别在以上两种试验中再加入可能有干扰的物质以验证鉴别效能和对已知品的确认效能。

2. 定量验证　将对照品溶液制备成一系列浓度梯度溶液，分别测定，空白溶剂的测得值为零。根据测定结果考察测得值与已知量之间的函数关系是否适用于测定，以及其适用的含量范围和检测限。取浓度相同的几份溶液同时测定，计算方法的精密度和准确度。

具体应用与上述定性验证方法一样，也有几种方法：①单纯用对照品按上述方法求定量函数关系、测定范围、检测限、准确度及精密度，这是对测定方法本身的验证，是测定方法的基础，要求较高。②按上述实验方法，将单纯对照品从处理检材开始，经过分离净化等操作后测定。可以验证包括检材处理过程的整套方法。③在空白模拟检材经过前处理后的待测液中，加入对照品进行与上述相同的试验，可验证检材在处理过程中是否引入干扰因素及其对结果的影响。④将对照品加入各种模拟材料中，制成含有一定量对照品的各种模拟检材。对整个测定方法实行验证。⑤在可能同时存在多种毒物时，仍依据以上的原则设计，对方法的可行性和可靠性进行验证。

3. 回收试验 回收试验是在模拟材料中加入一定量待测物的对照品，按预定方法进行处理并测定，计算回收率。回收试验应当考虑：①方法所测定的物质必须经过验证确是所加入的已知物而不是别的物质；②方法测得值与含量间的函数关系经过验证是可行的，测定的适宜范围应与实际检材中的可能含量相适应；③若被测试液中存在对测得值有影响的杂质，则杂质的含量必须是相对固定而且可以从测得值中设法消除其影响的；④同时用多份已知品含量相同的模拟检材进行测定，以多次测得相对含量值的平均值为回收率，并从中计算精密度；⑤在方法的适用范围内以高、中、低三种已知加入量，分别验证回收率和精密度，差异不应太大。

对于毒物含量低的体内检材，不易达到很高的精密度和回收率。但应具有可以说明对测定结果有把握的精密度和回收率。一般地说，对体内检材中毒物的检测，从检材处理开始的整套方法，其回收率应不低于 60%，相对标准差应不高于 10%。此外，回收率一般不应该用作换算检材中实际含量的依据。

（四）随行标准参比法

随行标准参比法已在第二章对检材处理的效率验证中有所述及。应用随行标准参比法，所选用的参比物必须首先进行试验验证，确实能起到随行跟踪或内标的作用才能应用于实际检验工作。

随行标准参比物，除了应是化合物的纯品外，还应具备以下几个主要条件：①理化性质稳定，在整个检测过程中不会发生分解变质，也不会与被测物发生化学作用；②既不是检材中可能存在的，也不是与案件有关的毒物及其代谢物；③与被检测物有相似的理化性质，能与之共同通过整个过程，并与被测物有相类似的或成某种比例关系的蚀耗；④与被检测物有可区分的理化性质，在检测中不会产生相互干扰；⑤有相适应的检测限、测定范围、精密度和可靠的回收率。

由于选取适用的参比物比较困难，随行标准参比法的应用具有较大局限性。但仍然是实际工作中验证检验结果可靠性的一种好办法。

小结

法医毒物分析常用的方法很多，都是依据物质的不同特性而进行检测。根据所用方法的分析目的不同，大致可以分为定性分析和定量分析。按其原理、技术和方法的不同，可分为形态学方法、动物试验方法、免疫分析法、理化分析法、仪器分析法。各种分析方法由于所依据的原理不同，能解决的问题不同，实行的操作方法不同，以及应用的场合不同，在实际检验工作中可以产生不同的效用。选用的分析方法，应通过验证以保证方法的适用性、可信性和可行性。

Summary

There are lots of methods for forensic toxicological analysis, which should be selected according to different character of samples. Based on the different purposes, the analysis consists of qualitative and quantitative analysis. Different principles classify the methods into several types: morphological method, animal test, immunoassay, chemical and physical analysis and instrumental analysis. In order to deal with every situation we should ensure the accuracy of test results, it is very crucial for us to choose the suitable method in each case.



思考题

1. 定性、定量分析方法的特点是什么?

2. 常用的毒物分析方法有哪些?各自有什么特点及适用范围?

3. 在确证试剂、条件和操作无误的情况下,分类试验的结果能说明什么问题?确证试验的结果又能说明什么问题?

4. 分析方法的认证包括哪些方面?分别如何实施?

(四川大学华西基础医学与法医学院　廖林川)

第四章　仪器分析

要　点	
光与光谱	光是具有波动性和微粒性的电磁波。一定波长的光，具有一定的能量，光波由紫外到红外的排列称为光谱。
紫外可见分光光度法	以可见光或紫外光为光源测定有色或无色物质分子吸收光谱的方法称为紫外可见吸收光谱法。每一物质对光都有最大吸收波长，因此可以根据吸收曲线和最大吸收波长来判断属于何种物质。依据这个原理以可见光与紫外光做光源而设计的测量物质分子吸收光谱的仪器叫紫外可见分光光度计。
红外分光光度法	红外光谱也属于分子吸收光谱。它是由于分子振动能级跃迁而产生的，由于分子在振动能级跃迁的同时还伴随着转动能级的跃迁，因此红外光谱又称分子振转光谱。
荧光分光光度法	某些物质的分子或原子受到紫外线照射后，其中某些电子吸收了与它所具有的特征频率相一致的光线，由基态跃迁到第一电子激发态的各个振动能级。被激发到第一电子激发态的各个振动能级的分子，由于无辐射跃迁，消耗了一部分能量而下降到第一激发态的最低振动能级，再由该最低振动能级下降到基态中不同振动能级，同时发射出比原来吸收的频率低，波长长的一种光能，这种光就称为荧光。
原子吸收光谱法	原子吸收光谱法又叫原子吸收分光光度法，或叫原子吸收分析。此法是基于从光源发射的目标元素的特征辐射通过样品蒸气时，被蒸气中目标元素基态原子吸收，由辐射的减弱程度来求得样品中被测元素含量。
原子发射光谱法	由于各元素的原子结构不同，因此各元素都有自己特征的线光谱。元素周期表中一百多种元素所得的谱线的条数、位置都不相同，我们可以用某种元素的特征谱线来识别这种元素。这是发射光谱法定性分析的基础。谱线的强弱和谱线出现的数目与检样中该元素的含量有关，这是发射光谱定量分析的基础。
色谱与色谱分析	色谱分析的原理是色谱体系中有固定相和流动相两个相态，分离过程中，两相作相对运动。预备分离的混合物组分随流动相通过固定相，由于不同物质在两相中具有不同的分配系数，当两相作相对运动时，这些组分在两相中进行反复多次的分配，从而使各组分得到完全的分离。

质谱法	质谱是把热电子轰击到气态物质上，产生带电荷的离子后，进一步使带电荷的离子裂解成一系列的碎片离子，再通过磁场的作用使生成的各种离子按其质量电荷比（简称质荷比，m/z）的大小排列而成的图谱。通过样品的质谱来进行成分和结构分析的方法称为质谱分析法。
两谱联用技术	色谱/质谱联用技术，色谱/光谱联用技术已成为复杂混合物定性定量分析的重要手段。其中发展得最成熟、应用最广泛的是气相色谱/质谱联用技术和气相色谱/红外光谱联用技术。在毒物分析中主要应用的是色谱/质谱联用技术。
相关主题词	光谱法　色谱分析　质谱分析　分析化学　仪器分析

第一节　光谱法

一、光与光谱

光的本质是什么？人为什么能看见物体？关于光的原理，人类已有相当悠久的研究，由于长期理论和实践的积累，逐步接近真理。

早在公元前 400 至 470 年先秦时代的《墨经》，可谓世界上最早的光学著作。《墨经》中关于光与影的关系；光的直线传播；针孔成像；光的反射；平面镜、凹透镜和凸透镜中物和像的关系等堪称世界上最早光学著作。自《墨经》后的 2 000 多年中，科学家对光进行了不懈的研究，取得了巨大的进展，奠定了现代光学发展的基础。

1665 年，牛顿提出光谱（spectrum）的概念。一定波长的光，具有一定的能量，光波由紫外到红外的排列称为光谱。

1873 年，麦克斯韦在前人的基础上，建立了著名的电磁理论，用大量的实验确认了光是电磁波（electromagnetic wave）。

1888 年赫兹实验发现了波长较长的电磁波——无线电波，测出其传播速度与光速相同，并证明它和光一样，能产生反射、折射、衍射、干涉和偏振等现象。无线电波具有与光一样的性质。这样，麦克斯韦的理论因得到实验的有力支持而被广泛的接受。

1900 年，普朗克（Max Planck）提出了辐射的量子论。他认为各种频率的电磁波，包括光波，只能像微粒似的以一定最小份额的能量发射，普朗克称它为能量子，正比于频率。同时，发现了光电效应，即光照射在金属表面上可以使电子逸出，逸出电子的能量与光强无关，但与光的频率有关，这是一个光吸收的问题。

1905 年，爱因斯坦（Einstein）提出了狭义相对论的基本原理。他的新概念解释了以光速运动的高速运动状态的特征，提出了光的波粒二相性，圆满解释了运动物理的光学现象。

1916 年，密立根测定了光电效应申普适恒量 K，并利用关系式 $h=ke$ 确定了普朗克常数 h，其数值与在热辐射实验中测定的 h 值一致，使爱因斯坦的光子假说和方程得到了完全证实。

后来，众多科学家的实验证明，红外线、紫外线和 X 射线等都是电磁波。经过科学家几百年的努力，形成了现在公认的电磁波谱。

光是具有波动性和微粒性的电磁波。可见光、紫外光、红外光、X 射线、微波、中波等电磁波，它们之间的区别仅仅是波长。

光谱分类的方法很多。按波长的区域来分类，可分为红外光谱、紫外光谱、可见光谱、

X 射线谱等，如表 4－1；按产生的结构来分类，可分为原子光谱和分子光谱；按产生的方式不同来分类，可分为发射光谱和吸收光谱；按光谱的形式来分类，可分为线光谱、带光谱和连续光谱。

在现代仪器分析中，一般按光产生的结构将光谱分为原子光谱和分子光谱。

表 4－1 电磁波谱的区域

名称	波长范围		频率范围	波数范围
	常用单位	m	Hz	cm^{-1}
X 射线	10^{-2}～10 nm	10^{-12}～10^{-8}	10^{20}～10^{16}	
远紫外线	10～200 nm	10^{-8}～2×10^{-7}	10^{16}～10^{15}	
近紫外线	200～400 nm	2×10^{-7}～4.0×10^{-7}	10^{15}～7.5×10^{14}	
可见光	400～750 nm	4.0×10^{-7}～7.5×10^{-7}	7.5×10^{14}～4.0×10^{14}	25 000～13 000
近红外线	0.75～2.5 μm	7.5×10^{-7}～2.5×10^{-6}	4.0×10^{14}～1.2×10^{14}	13 000～4 000
中红外线	2.5～50 μm	2.5×10^{-6}～5.0×10^{-5}	1.2×10^{14}～6.0×10^{12}	4 000～200
远红外线	50～1 000 μm	6.0×10^{-5}～1×10^{-3}	6×10^{12}～10^{11}	200～10
微波	0.1～100 cm	1×10^{-3}～1	10^{11}～10^{8}	10～10^{-2}
无线电波	1～1 000 cm	1～10^{3}	10^{8}～10^{-2}	

1. 原子光谱　一个原子吸收了一定数量的能量后将跃迁到一个特定的高能态，当这个原子再返回到原来的能态，则吸收的能量将以辐射形式释放出来。不同的原子在这个能量吸收或释放过程中就会形成特征光谱。假若原子被热或电激发，则原子就以发射光谱的形式释放出所吸收的能量，形成原子发射光谱分析；假若被光能激发，那么原子就只能吸收某些固定波长的光，这样就可以观察到吸收光谱，形成原子吸收光谱分析。

2. 分子光谱　分子光谱比原子光谱复杂得多，这是因为在分子中除了电子运动外，还有各原子间的振动以及分子作为整体的转动。分子光谱法就是以测量分子转动能级、分子中原子的振动能级（包括分子转动能级）和分子电子能级（包括振-转能级）跃迁所产生的分子光谱为基础的定性、定量和物质结构分析方法。根据物质对电磁波的选择性吸收特性而研制出来的仪器有："可见分光光度计"、"紫外分光光度计"、"紫外可见分光光度计"、"红外分光光度计"、"荧光分光光度计"等。

二、吸收光谱法

（一）基本原理

每个分子都有其特征的分子能级。分子内部的运动可分为价电子运动、分子内原子在平衡位置附近的振动和分子作为整体的转动，因此，每一个分子都具有电子运动、分子的振动和转动三种运动形式，每种运动形式都具有一定的能量，呈量子化的特征。当分子从外界吸收的能量恰好满足该吸收物质两能级间跃迁所需的能量时，即从基态能级跃迁到激发态能级，图 4－1 给出了双原子分子能级示意图。

由于分子能级跃迁是三种能级跃迁，这三种能级跃迁所需能量不同，所以需要不同波长的电磁辐射来使它跃迁，因而在不同的光谱区出现吸收谱带。

电子能级跃迁能量需要较大，一般在1～30 eV，所产生的吸收光谱主要处于紫外和可见光区（200～760 nm），这种光谱称为电子光谱或紫外可见光谱。

振动能级跃迁所需能量一般为电子能级差的 1/10，在 0.05～1 eV 之间，相当于红外的能量，由振动能级间的跃迁所产生的光谱

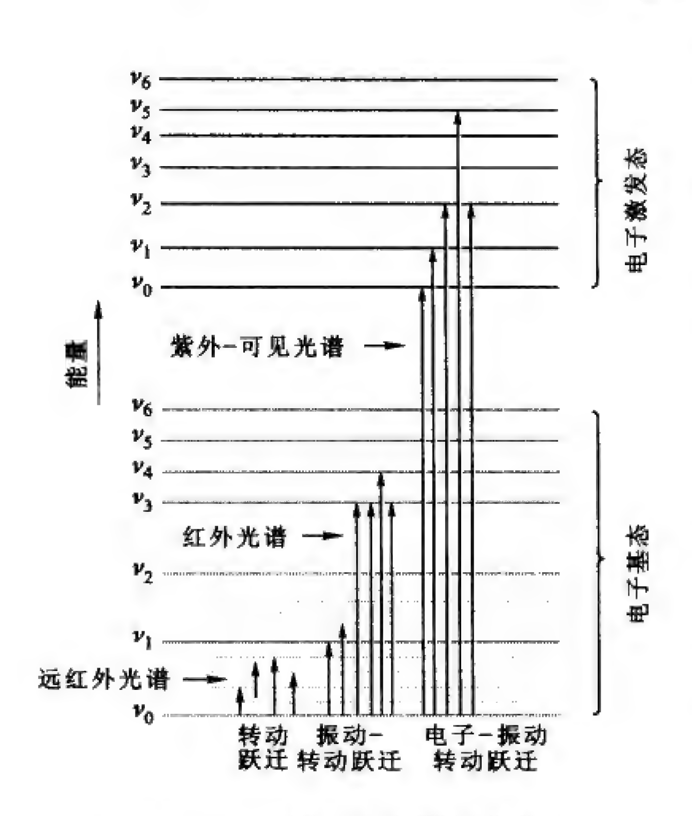


图 4-1 双原子分子能级示意图

叫振动光谱,又称红外光谱。

转动能级跃迁所需能量一般为 0.05~0.005 eV,由于转动能级的跃迁而产生的光谱叫转动光谱或叫远红外光谱。

每一个分子都有一特定的能级,它只能吸收或放出等于两个能级之差的能量,因此,当各种不同波长的光分别通过某一物质时,只有某些特定波长的光量子能引起吸收,从而获得它的特异性吸收光谱。此特征吸收就是定性分析的基础。

（二）紫外可见分光光度法

研究物质在紫外可见光区分子吸收光谱的分析方法称为紫外可见分光光度法。每一物质对光都有特征吸收波长,因此可以根据吸收曲线和最大吸收波长来判断属于何种物质。依据这个原理以可见光与紫外光做光源而设计的测量物质分子吸收光谱的仪器叫紫外可见分光光度计。它的工作波长区域在 200~760 nm。按光束的数目分为单光束和双光束。

紫外可见分光光度计主要由光源、单色器、吸收池、光电转换元件(检测器)和测量信号指示器组成。如图 4-2 所示。

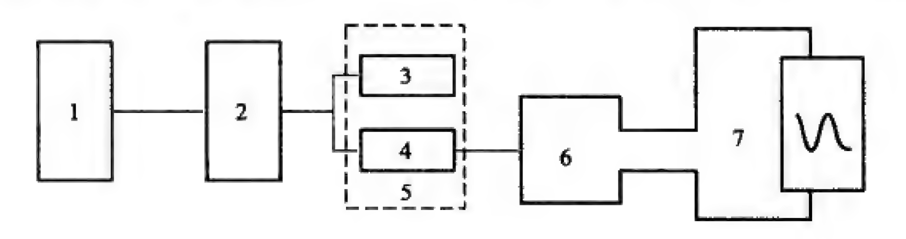


图 4-2 紫外可见分光光度计示意图

1. 光源;2. 单色器;3. 空白溶液;4. 试样溶液;5. 吸收池;6. 检测器;7. 记录仪

光源:钨灯发射 350~760 nm 可见光区连续稳定的光;氘灯发射 190~400 nm 连续稳定的紫外光。

单色器:棱镜或光栅。通常包括狭缝和透镜系统。单色器的作用是将来自光源的连续光谱中按波长顺序色散,并从中分离出一定宽度的谱带。现在,高级的分光光度计往往采用双单色器,即包含两个光栅或两个棱镜;或一光栅一棱镜,以提高仪器的分辨能力。单色器分光原理分别为光的折射与光的衍射原理。

吸收池:可分为石英吸收池和玻璃吸收池。石英吸收池适用于紫外及可见光区,玻璃池只能用于可见光区。

检测器:光电倍增管,可将光信号转变为电讯号。

记录仪:可用 X-Y 记录仪,还有检流计、电位器、数字显示以及自动打字装置等。

1. 定性分析　用物质的紫外可见吸收特征曲线进行物质种类的认定一般根据峰型、峰数、峰强及峰位极大、极小、拐点、肩峰等。一个纯净的化合物在一定的溶剂中,紫

外可见吸收光谱相同，不同的物质均有标准的紫外可见吸收光谱图。在进行比对鉴定时，按以下顺序进行。

(1) 比较光谱的一致性　在相同的实验条件下，比较两个吸收曲线是否完全一致。

(2) 比较最大吸收波长 λ_{max} 及摩尔吸光系数 κ_m 的一致性　两物质的紫外吸收曲线相同是否具有相同发色团，要看吸光系数是否相同。

(3) 比较吸光度比值的一致性　在吸收峰较多的场合，往往将几个吸收峰处吸光度或吸光系数的比值是否一致作为鉴定标准更为可靠。

2. 定量分析　紫外及可见光都是以朗伯—比尔定律为基础的。当一束单色光通过被测物质时，由于光被物质吸收，能量减少，被物质吸收的量与入射光的波长、物质性质、浓度以及光路的长度有关。在一定波长时，被吸收的量与浓度、介质层的厚度（光路长度）成正比。

在操作上最常用的是标准曲线法，如图 4－3 所示。首先配制一系列不同浓度的标准溶液，以不含试样的空白溶液作参比，测定标准溶液的吸光度，然后绘制吸光度浓度曲线，在与标准溶液完全相同的操作条件下，测定未知试样的吸光度 A_x，根据标准曲线求出未知试样含量 C_x。

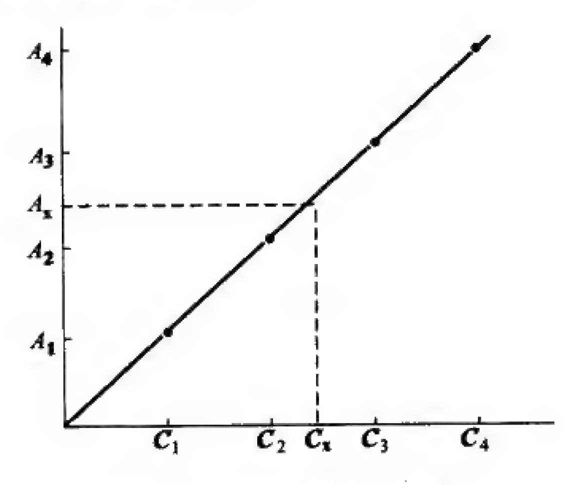


图 4－3　标准曲线法及其应用

如：氰化物中氰离子与某些试剂在一定条件下反应生成有色物质，当氰离子浓度在一定范围内时，生成的有色物质最大吸收波长处的吸光度与氰离子浓度呈线性关系。

3. 导数分光光度法　为了提高紫外可见吸收光谱分析的准确性，大大提高分辨率，与计算机的联机操作，可以相当简单地对信号实现模拟积分，获得较高阶的导数光谱。

利用导数光谱技术，即通过电子微分装置，将普通的紫外光谱转变为一阶、二阶或多阶的导数光谱，导数光谱比普通光谱能更精确地指出吸收峰的位置。一些在普通光谱中不明显的特征，经过电子微分装置处理后变得更加明显了，为准确地解析某些相似的紫外吸收光谱图提供了可靠的依据（图 4－4）。

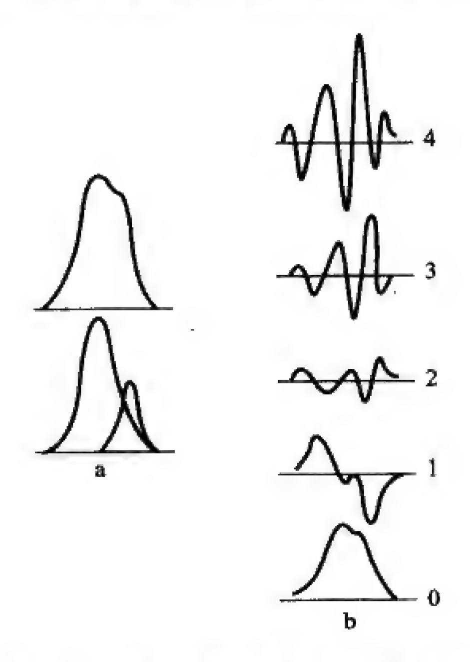


图 4－4　两个吸收峰重叠及其第 1 阶到第 4 阶导数曲线示意图

a. 紫外光谱图；b. 导数光谱图

紫外可见导数分光光度法（derivative spectrophotometry）对于微量分析、试样检验、多组分混合物的叠加光谱的分离和测定、消除共存杂质的干扰与背景吸收、测定混浊试样都具有特殊的优越性。

4. 紫外可见分光光度法的应用

(1) 紫外分光光度法分析药物，因本身

无分离的功能，一般只适于单一药物的分析，当存在两种或两种以上药物时，吸收特征不能作定性依据。以巴比妥药物的分析为例，由于呈现相同特征的吸收图谱（硫喷妥除外），所以只能作类别检验，不能进一步判断是何种巴比妥类药物。如已用其他手段验证是何种药物，则紫外分光光度计是很好的巴比妥类药物的定量分析手段。

对腐败检材，用紫外分光光度法定性定量分析时，由于在酸性条件下一般被乙醚提出的杂质较多，往往影响药物的紫外吸收峰形。因此，应取空白组织进行平行操作提取，以此提取液作紫外分光测定的参比溶液，可消除一部分杂质的影响。

巴比妥酸类催眠药在碱性溶液中，电离为具有紫外吸收性质的结构，其吸收光谱随电离级数的不同而异。5,5 -巴比妥在 pH 10 溶液中（一级电离），于 240 nm 处出现特征吸收峰；在 pH 14 溶液中（二级电离）于 255 nm 处出现特征吸收峰（图 4 - 5）。

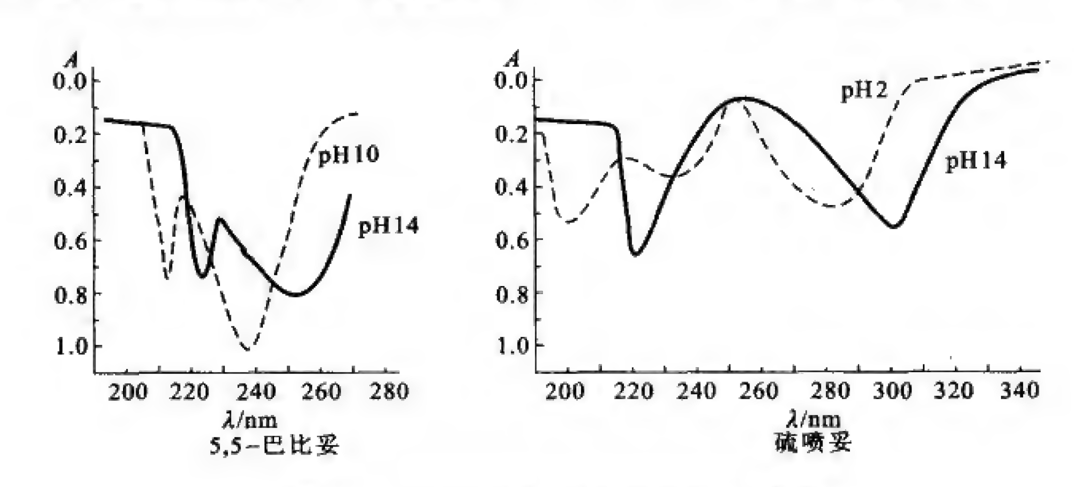


图 4 - 5　两种巴比妥类药物的紫外吸收光谱

硫喷妥在 pH 14 溶液中（二级电离），于 305 nm 处出现特征吸收峰，在 pH 2 溶液中（不电离），于 288 nm 处出现特征吸收峰。

因此，可利用以上紫外光谱的不同，鉴别 5,5 -巴比妥和硫喷妥。

(2) 紫外光谱鉴定一个化合物的光谱特征，如吸收峰的数目、位置、强度（摩尔吸收系数）及吸收峰的形状（极大、极小和拐点），经与纯化合物的标准紫外光谱图作对比而认定。但大多数化合物的紫外光谱，谱带数目不多，且谱带宽而缺少精细结构，特征不明显，因此一般多采用导数光谱来确定峰位。对于只有几个吸收峰，结构相似的一类化合物，其紫外光谱基本相同，因此，单凭紫外光谱来鉴别未知物是困难的。常用紫外光谱配合红外光谱、质谱、核磁共振波谱作有机物分子结构的分析。

(3) 紫外可见分光光度法在司法鉴定中主要用于文字书写材料、油脂、染料、黏合剂的分析鉴定，测定十几微克或几十微克的样品，相对误差一般不超过 1%～5%。适用于在紫外可见光区有吸收的物质。它们一般是芳香族或有双键的化合物。在现代法医毒物分析中，由于其他仪器分析方法的广泛应用，紫外可见分光光度法目前常用于一氧化碳中毒者血液中碳氧血红蛋白含量的测定及一些无机毒物如亚硝酸盐、盐卤、氰化物的定量分析。

图 4 - 6 所示的是氧合血红蛋白（HbO_2）与碳氧血红蛋白（HbCO）比对光谱的特征吸收。HbO_2 在 589～577 nm、556～536 nm 区间有两条吸收谱带，其中于 579、542 nm 处有最大吸收。HbCO 在 579～564 nm、548～530 nm 区间有两条吸收谱带，其中于 572、

539 nm 处有最大吸收。当加入还原剂后，检血中 HbO_2 和高铁血红蛋白被还原成还原血红蛋白([Hb])，此时吸收谱带变成 1 条，即在 530～580 nm 之间，最大吸收波长为 556 nm，而 HbCO 则不变。如果检血中 HbCO>40%，即可用此法检测。

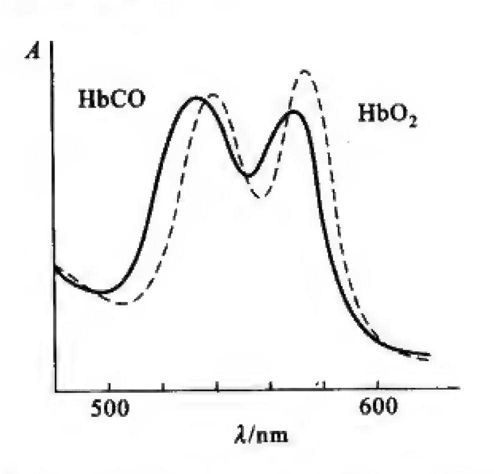


图 4－6 HbCO 和 HbO_2 在 500～600 nm 波段的吸收光谱图

(三) 红外分光光度法

1. 基本原理 红外光谱分析(infrared spectrum)是在 1800 年发现红外辐射之后发展起来的。红外光谱也属于分子吸收光谱。它是由于分子振动能级跃迁而产生的，由于分子在振动能级跃迁的同时还伴随着转动能级的跃迁，因此红外光谱又称分子振转光谱。

任何分子就其总体而言，呈电中性。但由于构成分子的各原子的电负性不同，使分子产生不同的极性，通常用分子的偶极矩来描述。当一定频率的红外光照射待测物质的分子时，如果分子中某个基团的振动频率和它一样，二者就产生共振，振动能量和转动能量就增加，引起待测分子偶极矩的变化，这个基团就吸收了一定频率的红外光，产生振动转动能级的跃迁。反之如果红外光的频率和分子中各基团的频率都不符合，该部分的红外光就不会被吸收，因此用连续改变频率的红外光照射待测物质，测定通过试样后的红外光在一定波长范围内变弱(被吸收)，在一些范围内较强(不吸收)，将分子吸收红外光的情况用仪器记录下来就得到该待测物质的红外吸收光谱图。

红外吸收光谱，能提供有机官能团结构的信息，所以具有高度的特征性。除光学异构体以外，每一种化合物都有自己的特定的红外吸收光谱，特别适合鉴定有机物、高聚物，以及分子结构复杂的天然及人工合成的产物。

2. 红外分光光度计 红外分光光度计(infrared spectrophotometry)是用于检测物质红外吸收光谱的仪器。由于红外分光光度计与紫外分光光度计工作波长范围不同，所以光源、透光材料及检测器等部件都不同。

目前，多采用双光束红外分光光度计。主要是由产生连续红外光的光源、样品池、单色器、检测器及放大器、记录器组成。如图 4－7 所示：

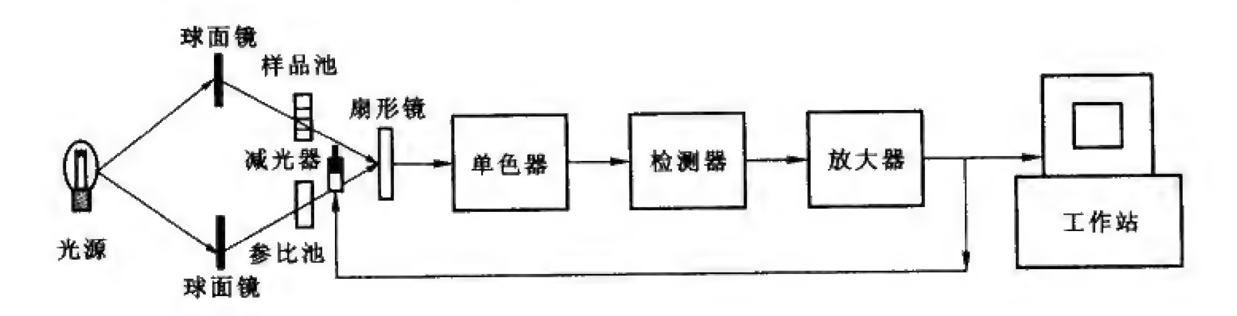


图 4－7 双光束红外分光光度计示意图

光源：能斯特(Nernst)灯是应用最广的分光光度计光源。由于它不会被氧化，因此可以在空气中工作。另一种光源是硅碳棒，它的发射率比能斯特灯高一些。

单色器：通常用光栅或棱镜，单色器(monochromator)是双光束红外光谱仪的核心部件，不同仪器单色器不同，分辨率不同。

检测器：检测器可分为两大类。一类是热电偶检测器，是最广泛应用的红外检测器，它取决于大量入射光子经热效应产生可测响应的累计能量。热电偶检测器有一个较宽的波长应用范围，但灵敏度较低，响应较慢。另一类是光子检测器，是一种高灵敏的检测器，但缺点是它们能响应的波长范围有严格的限制。

3. 傅里叶变换红外光谱仪　傅里叶变换(Fourier transform)红外光谱仪是20世纪70年代问世的，称为第三代红外分光光度计。它主要由光源(硅碳棒、高压汞灯)、迈克尔逊干涉仪、试样插入装置、检测器、电子计算机、记录仪等部分构成(图4-8)。

傅里叶变换红外光谱仪与色散型红外分光光度计的主要区别在于干涉计和电子计算机两部分。

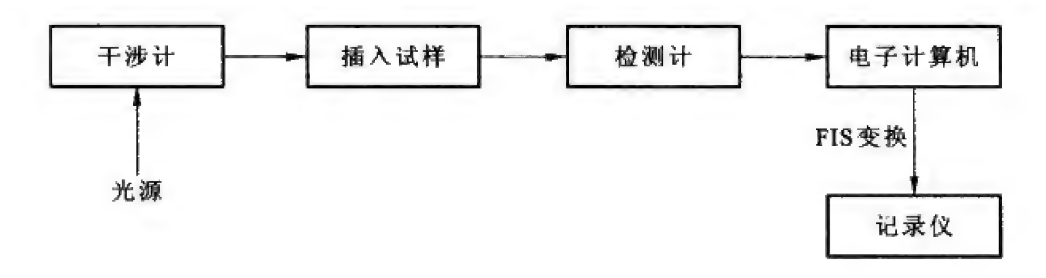


图4-8　傅里叶变换红外分光光度计示意图

光源发出的红外辐射两束光，经过不同路程后再聚到某一点上，发生干涉现象，形成干涉谱图。再通过试样后即变为带有样品信息的干涉谱图，经放大器将信号放大，直接输入到专用计算机中。经计算机自动计算处理后，就会绘出吸收强度(或透过率)随波数变化的红外图谱。

傅里叶变换红外光谱仪主要特点是测量时间短，其扫描速度较色散型红外分光光度计快数百倍。灵敏度高，检测限可达10^{-9}～10^{-12} g。适用于微量样品的直接测定，不损坏样品。

4. 红外分光光度法的应用　红外光谱法应用极广，无论试样是固体、液体或气体都可以进行红外光谱分析，而且试样不遭破坏，检测后还可以将试样回收再进行其他方法的检测。在应用中具有如下特点：

(1) 特征性高，可以区分化合物的同分异构体　每种化合物都有其特定的红外光谱，有的光谱中有几十个吸收峰，将其与纯物质的标准谱图进行比对，当峰型、峰数、峰强、相对强度均与标准纯物质一致，则可认定为同一物质。因为一个分子的红外光谱图是分子结构的客观反应，图谱中的吸收峰都是相应分子中各基团、化合键的振动转动能级的跃迁而引起的吸收。各种有机化合物，由于结构不同，其分子振动频率也不一样，吸收的红外波长也不同。同分异构体，由于基团的空间排列方式不同，红外吸收光谱也有区别。例如，图4-9显示的是苯环取代烃的四种红外图谱。从中可以看出在900～600 cm^{-1}指纹区，尽管B、C、D三种化合物的分子式和所有基团都相同，但由于甲基在苯环上取代的位置不同，其红外光谱图还是有很大的差异，所以红外光谱分析是有机化合物定性的基础，被誉为化合物的指纹。

(2) 可用于未知物结构的测定　解析未知物的红外光谱图可以推定未知物的结构。

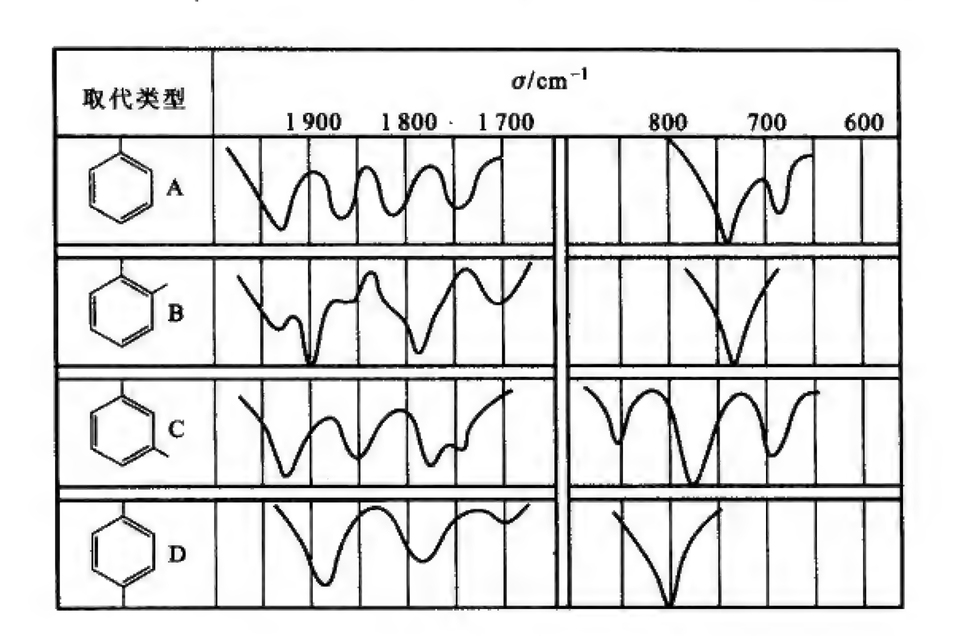


图 4-9 四种苯环取代烃的红外光谱图

A:甲苯;B:邻二甲苯;C:间二甲苯;D:对二甲苯

一般程序是先在官能团区(4 000~13 000 cm^{-1})搜寻官能团的特征伸缩振动,再根据指纹区吸收情况进一步确定该基团的存在及与其他基团的结合方式。对于比较复杂的化合物,只用红外光谱很难确定其结构式,还要与紫外、质谱、核磁共振配合,才能确定。

(3) 在法医毒物分析中的应用 红外光谱法很早就已经应用于毒物分析中,通过化合物的红外光谱图推测物质的种类及来源,适用于缩小侦查范围和指出侦查方向的物证检验。例如,在海洛因中掺入咖啡因,在海洛因的红外图谱中就明显地可以看出咖啡因成分的基团位置及峰型(图 4-10、图 4-11)。从而为侦查提供线索和方向。但由于法医毒物分析的样品中成分比较复杂,仅使用红外光谱仪对生物样品中的药物进行定性有时很困难,其常常与气相色谱仪联合起来使用,利用色谱先使样品中的各成分分离后,再测定其红外光谱图,就可以达到准确定性的目的。这就是常说的气相色谱/红外联用仪。红外光谱法目前已广泛应用于安眠镇静药物、毒品、农药、生物碱等的定性分析中。

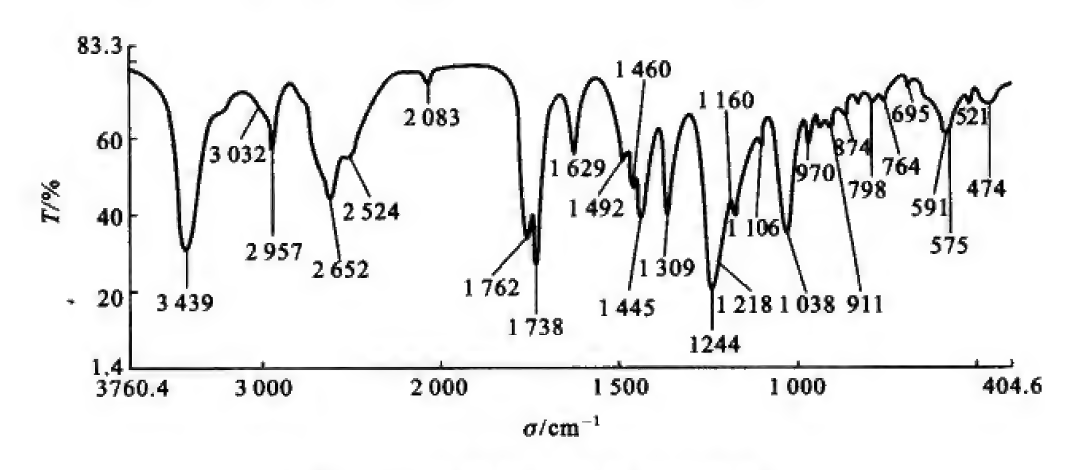


图 4-10 海洛因盐酸盐的红外光谱图

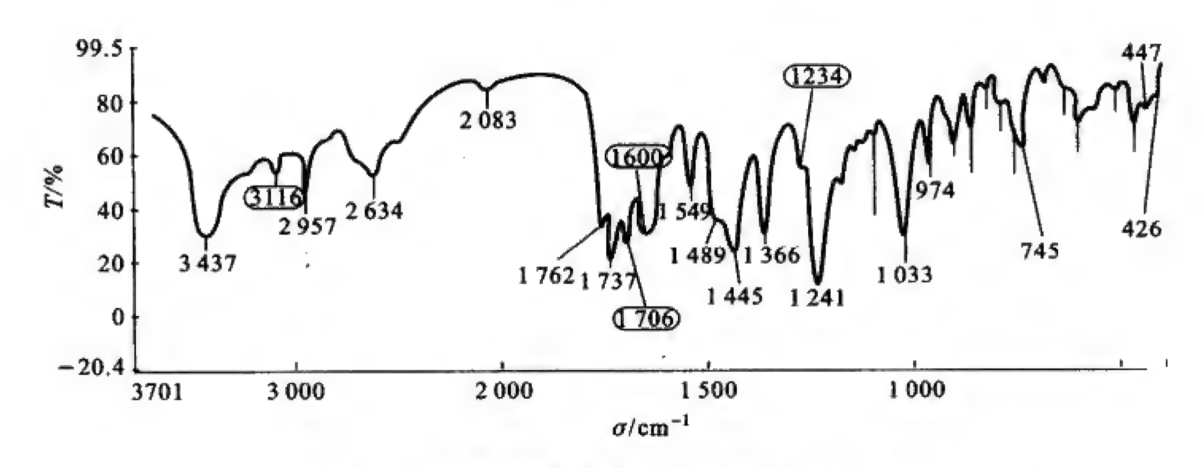


图 4－11　海洛因和咖啡因的混合物的红外光谱图

（四）原子吸收光谱法

1. 基本原理　原子吸收光谱法又叫原子吸收分光光度法，或叫原子吸收分析。

绝大多数的化合物在加热到足够高的温度时可离解成为气态原子或离子，形成蒸气。当从光源发射的目标元素的特征辐射光通过样品蒸气时，就会被蒸气中目标元素基态原子吸收，引起辐射光的减弱而形成很窄的锐线吸收光谱。通过测量气态自由原子对特征辐射光的吸收程度来推断样品的元素组成和含量的方法称为原子吸收分光光谱法。

如图 4－12 所示，每一种元素能发射一定波长的光，它也能吸收同样波长的光。如钠在它的发射光谱上，有表明它特征的黄色谱线，而在它的吸收光谱上，就在它的黄色谱线位置是一条暗线。每一种元素在发射光谱上明线的位置与它的吸收光谱上暗线的位置是重合的。元素周期表上一百多种元素所得的谱线的条数、位置都是不相同的。我们可以用某元素的特征谱线来识别这种元素。建立在原子对辐射能吸收基础上的分析方法称为原子吸收法或原子吸收光度法。

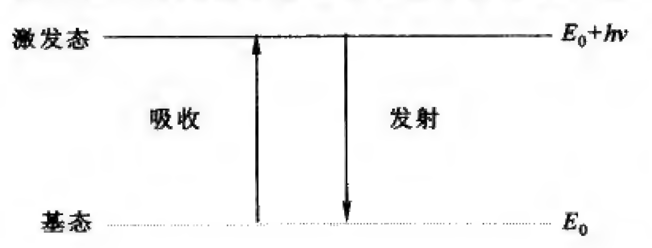


图 4－12　原子吸收与原子发射之间的关系

2. 原子吸收分光光度计　原子吸收分光光度计(Flame atomic absorption spectrophotometry)，主要由四个主要部件组成：光源、原子化器、单色器和检测器。其工作程序如图 4－13 所示。光源由稳压电源供电，发出的是目标元素的光谱，经过目标元素原子蒸气，部分被其吸收，未吸收的透过光进入单色器。经分光后，由检测器转换成电讯号，经放大后由记录器或读数器显示。

原子吸收分光光度计的光源是空心阴极灯，它主要是由一根钨棒作阳极，一根目标元素的金属制的阴极组成。这两根电极密封在低压惰性气体的玻璃管中，阴极的一端有石英窗。空心阴极灯形态为空心圆筒形。当两个电极加上电压，灯就点燃。在电场的作用下，阴极发射目标元素的特征光谱线。若测锌就用金属锌作阴极，若测铜则用金属铜作阴极。因此用原子吸收分光光度计测量某一元素时，有无该元素的空心阴极灯决定着测量能否实现。

原子吸收分光光度计中的原子化器分为两种。一种是有火焰原子化器，一种是无火焰原子化器，常用的是石墨电炉原子化器，在使用时常简称为“火焰法”和“石墨炉法”。

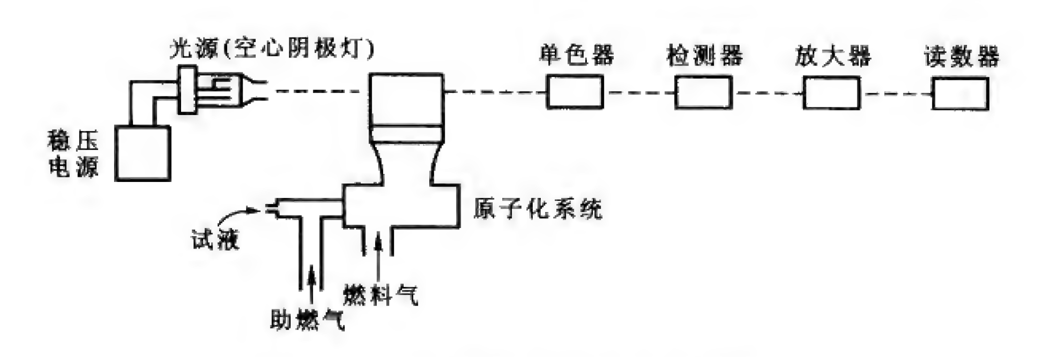


图 4-13 原子吸收分光光度法示意图

3. 原子吸收分光光度法的应用 在原子吸收光谱分析中每个元素都有着与其他元素不相混淆的特征吸收曲线，干扰少，选择性强。试样处理好后，用火焰法测定只需几十秒钟，用石墨炉法几分钟即可得到结果，分析速度较快，且灵敏度可达 10^{-6} 和 10^{-9} 级。

采用直接原子吸收和间接原子吸收光度法可以测定许多有机物、毒物、药物等，还可以用于放射性核素分析。但是原子吸收光度法测定每个元素都需要一个待测元素的空心阴极灯光源，不能同时检测多种元素；也不能获得分子结构分析的信息。因此对未知物的测定要准备足够的多种类的元素灯源。

由于现代分析仪器的快速发展，在现代毒物分析中已很少使用原子吸收光谱法来测定毒物，一般只用其来定性分析无机毒物中金属离子，如用其来测定氰化物中的钾离子或钠离子，以便区别氰化物为氰化钾或氰化钠，达到定性目的。

三、发射光谱法

（一）荧光分光光度法

1. 基本原理 荧光分光光度法（fluorescence spectrophotometry）又称分子荧光光谱法或分子荧光分析法。

某些物质的分子或原子受到紫外线照射后，其中某些电子吸收了与它所具有的特征频率相一致的光线，由基态跃迁到第一电子激发态的各个振动能级；被激发到第一电子激发态的各个振动能级的分子，由于无辐射跃迁，消耗了一部分能量而下降到第一激发态的最低振动能级。由该最低振动能级下降到基态中不同振动能级，同时发射出比原来吸收的频率低、波长更长的一种光能，这种光就称为荧光（图 4-14）。根据物质的荧光谱线位置及其强度进行物质鉴定和物质含量测定的方法称为荧光分析法。

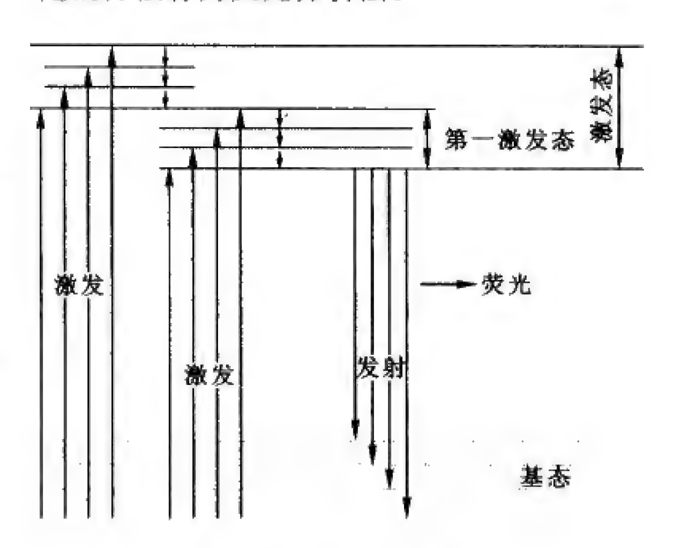


图 4-14 荧光产生示意图

并不是所有物质的分子在吸收紫外辐射后都能发生荧光。只有那些具有共轭双键，尤其是具有刚性平面和多环结构的分子才可能发射出荧光。荧光光谱和吸收光谱都是分子内部结构的特征反映，吸收光谱反映了分子内部基态结构的情况，荧光光谱反映的是分子内部激发态的能级结构（主要是第一电子激发态）。由于分子的第一电子激发态的能级结构与基态相似，所以荧光光谱与吸收光谱互为镜像。

根据荧光产生的原理，有些化合物受紫外线照射时，能发射出可见光，当停止照射后，这种激发出来的光也随之消失（一般存留时间不超过 10^{-5} s）。由紫外线激发所产生的这种可见光叫做荧光。它的强度随产生荧光的物质的量（在溶液中的浓度）而改变。根据物质的荧光谱线位置及其强度进行物质鉴定和物质含量测定的方法称为荧光分析法。

2. 荧光分光光度计　测量荧光强度的仪器称为荧光分光光度计，其种类繁多，它由光源、激发光单色器、试样池、发色光单色器、光电检测器及工作站组成。目前常用的是以高压汞蒸气灯或氙弧灯作光源，具有两个光栅单色器（一个作为激发光单色器，一个作为荧光单色器，使激发和荧光均为单波长的光），光电检测器（将荧光转变为电信号）组成。一般荧光发射检测器所在的位置与激发光单色器呈直角，这样可使激发光与荧光发射光有效地分离。如图 4－15 所示。

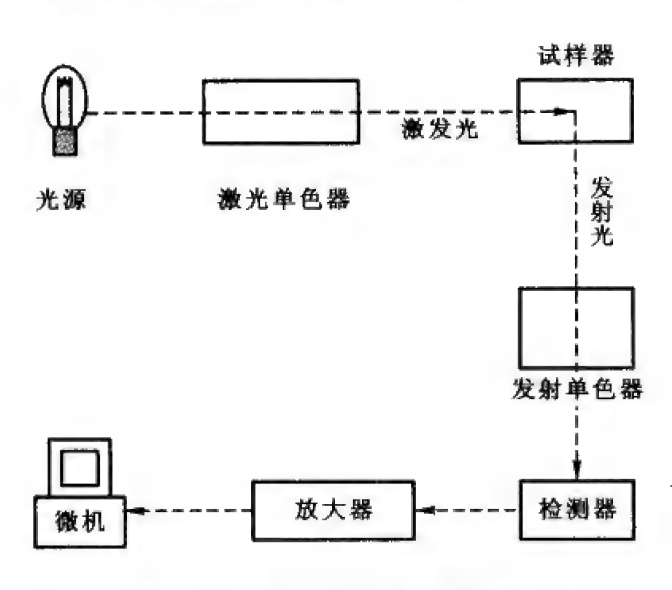


图 4－15　荧光分光光度计示意图

3. 分子荧光光谱法的应用　荧光发射光谱是指激发单色器的波长不变，发射单色器进行波长扫描所得到的荧光强度随发射光波长而变化的曲线。用荧光光谱鉴定物质时要同时参考荧光发射光谱和激发光谱，准确性更高。由于能发荧光的化合物比不能产生荧光的化合物要少，因而荧光法的选择性更好。

有机化合物中，在紫外光照射下，能发射荧光的物质很多，其中绝大多数为环状化合物，如喹啉、吲哚和嘌呤等稠杂环化合物；在无机化合物中，主要是无机元素络合物；在司法鉴定分析中用于对油脂、药物、毒物、矿物、生物物证等的定性定量分析。

在使用荧光分光光度计进行定性分析时，因为影响荧光分析结果的因素很多，应以已知样品进行对照，来保证结果的准确性。此法灵敏度为 10^{-12}～10^{-15} g。相对灵敏度在（100～1）×10^{-9}之间。

在法医毒物分析中，一般用分子荧光光谱法对微量毒物进行定量分析。对在一定条件下能产生强荧光的毒物，如：巴比妥类、安定类药物可直接进行测定。对在一定条件下不能产生荧光或荧光很弱的毒物，如氰化物可通过与荧光试剂的衍生化反应使毒物变成能产生强荧光的衍生物后再测定。

（二）原子发射光谱法

1. 原子发射光谱分析原理　任何元素的原子，在热能、电能的作用下，获得能量而由基态原子转变为激发态原子，激发态的原子很不稳定，在极短的时间内即跃迁至基态或其他较低能级，从激发态跃迁至基态或较低能态时，释放出的能量以光的形式发射出来，就产生一定波长的光谱线。而测量元素的原子从激发态跃迁至基态或较低能态时发射出光的强度来推断样品的元素组成和含量的方法称为原子发射分光光度法。

由于各元素的原子结构不同，因此各元素都有自己特征的线光谱。元素周期表中 100 多种元素所得的谱线的条数、位置都不相同，我们可以用某种元素的特征谱线来识别这种元素。这是发射光谱法定性分析的基础。谱线的强弱和谱线出现的数目与检样中该元素的含量有关，这是发射光谱定量分析的基础。

2. 原子发射光谱仪　原子发射光谱仪主要由光源、分光系统和检测系统组成（图 4－16）。

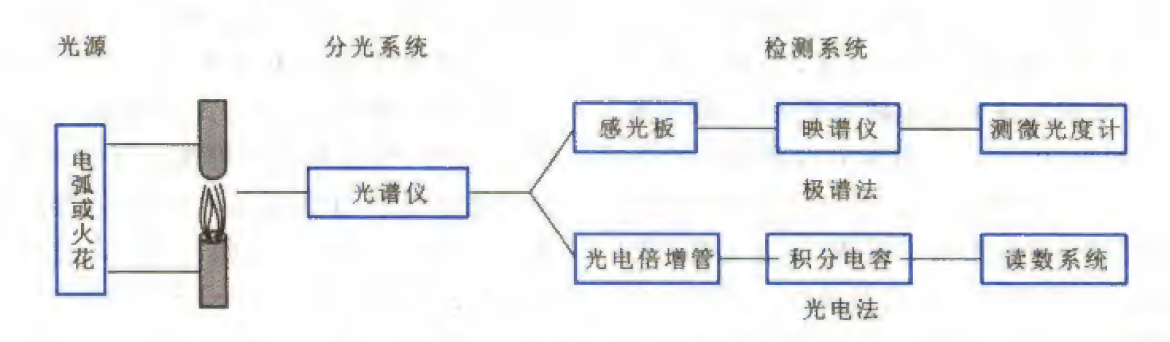


图 4-16 发射光谱分析仪示意图

发射光谱仪中的光源主要有直流电弧、低压交流电弧或高压火花光源。近年来，为了消除试样组成影响，提高光谱分析的灵敏度和准确度，常采用空心阴极光源、电感耦合等离子体(inductively coupled plasma，ICP)光源。

若检样是液体，则将检样蒸发后的残渣，再混入一定的石墨粉磨匀，然后再放入石墨电极小孔中作为光源中的一个阴电极，用石墨棒作阳电极。

当接上外电源后，电极温度升高，试样同时发生蒸发、激发及跃迁三个过程，以发射光谱的形式释放能量。从电极间隙发出的复合光，经分光系统后成为按一定波长排列的单色光光谱，再由检测系统记录下来，根据元素的特征谱线来进行定性分析，根据谱线的强弱来进行定量分析。

3. 原子发射光谱法的应用　每一种元素的原子被激发后，都产生一组特征光谱。根据这些特征光谱就可以准确无误的确认该元素的存在。例如，稀土元素，当它们共存时，用化学方法很难进行分别测定，而用发射光谱法则能实现。

发射光谱仪分析速度快，能同时测定多种元素，采用光电直读光谱仪，在几分钟内可给出合金中 20 多个元素的分析结果，且灵敏度可以达到$(0.1\sim10)\times10^{-6}$ g，绝对灵敏度可以达到 $1\times10^{-8}\sim1\times10^{-9}$ g。

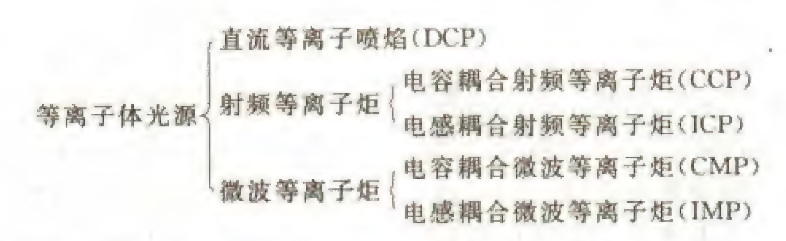
原子发射光谱分析目前已广泛用于司法鉴定中，如油漆、纸张、墨水、射击残留物、电击伤中金属元素的检验。但是其在非金属、卤素元素的测定上，灵敏度很低，而且定量分析准确度较差。

原子发射光谱法与原子吸收光谱法一样，在现代毒物分析中一般用于检验金属毒物或毒物中所含的金属离子，来定性化合物的盐型。

（三）等离子发射光谱法

1. 等离子发射光谱法原理　等离子光源是最近 30 年发展起来的一种光谱分析用的新型光源。

等离子发射光谱法的原理与原子发射光谱法相同。只是光源不同，等离子体光源是采用高温等离子体作为分析元素的激发光源。它是由自由电子、离子、中性原子、分子组成的，在总体上是呈电中性的气体。



2. ICP 光谱分析系统　目前，电感耦合射频等离子矩(ICP)是各种等离子体光源中灵敏度和准确度最高的光源，该光源的光谱分析系统如图 4-17 所示。

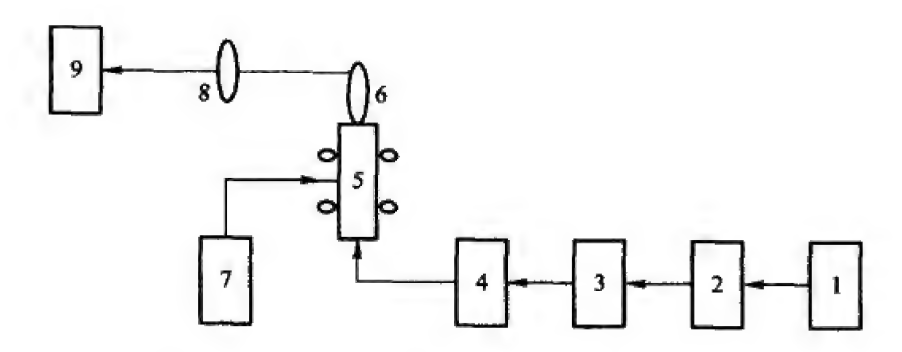


图 4－17　ICP 光谱分析系统示意图

1. 试样溶液；2. 雾化器；3. 加热室；4. 冷凝器；5. 等离子矩管；6. 等离子矩；
7. 高频发生器；8. 大孔径石英透镜；9. 光谱仪

ICP 光源的主体部分是一个输出功率为几千瓦、辐射频率为几十兆周的高频发生器。它产生的辐射频率，经过一个耦合系统，连接到等离子管铜线圈上。等离子管由同轴的石英管制成。

3. 等离子发射光谱法的应用　等离子焰的工作温度在几千或上万度，故易激发在一般电弧或火花中难于激发，甚至不能激发的元素；同时，由于在惰性气体中不易形成耐高温的物质，能够实现较为彻底的原子化，所以检出限可达 10^{-9} 级或者更低。

等离子发射光谱法准确度高，等离子焰的稳定性好，故相对误差一般小于 5%，检测方法的重现性好。因此成为目前发射光谱中应用最广的一种方法。

在毒品检验中，由于毒品的原料，合成的工艺及所用化学试剂中所含有的微量金属元素的种类和含量的不同，可以反映出毒品来源的信息，故等离子发射光谱法就是检测这些微量金属元素的最佳手段之一。

第二节　色谱法

一、色谱与色谱分析

色谱分析是重要的近代分析方法之一，已经历了百年的发展历史。20 世纪初，俄国植物学家 Tswett 应用吸附原理分离植物色素，他把菊根粉或碳酸钙装在玻璃管中，将植物叶子的石油醚提取液倒入管中，然后加石油醚自上而下淋洗，随着淋洗的进行，样品中各种色素向下移动的速度不同，逐渐形成连续色带，这种连续的色带被称为色层或色谱，色谱法由此得名。后来色谱法不断发展，普遍用于分离无色物质，并不存在色谱，但色谱法这个名称一直被保留下来。

色谱分析是一种物理化学分离方法。早期只用于分离，不用于检测。随着色谱检测技术的发展，色谱分析已集分离与检测于一体。

色谱分析的原理是色谱体系中有固定相和流动相两个相态，分离过程中，两相作相对运动。预备分离的混合物组分随流动相通过固定相，由于不同物质在两相中具有不同的分配系数，当两相作相对运动时，这些组分被流动相携带移动的速度不等——差速迁移，从而得到分离。

色谱分析有许多类型（图 4－18），常按以下三种方法分类：

一是按两相物态分类。以气体为流动相的，称为气相色谱，该气体称为载气；以液体为流动相的称为液相色谱。根据固定相是固体吸附剂或涂布在惰性载体上的一薄层有机化合物液体（此液体称为固定液），气相色谱又分为气固色谱和气液色谱。同理，液相色

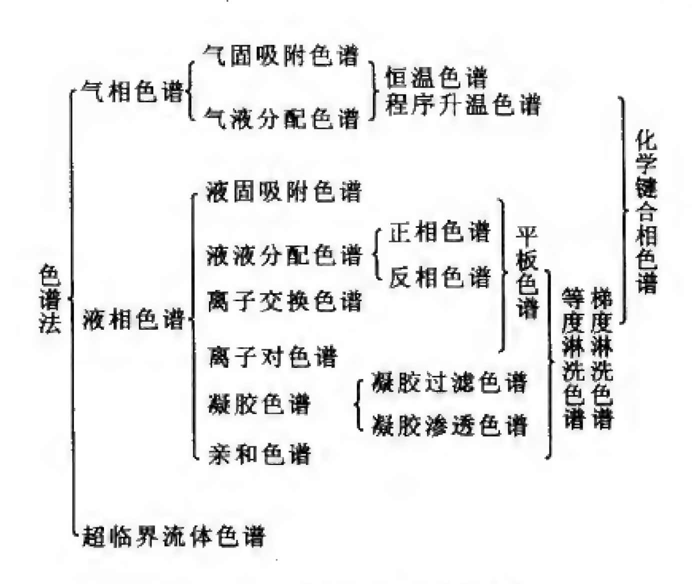


图 4-18 色谱法的分类示意图

谱也分为液固色谱和液液色谱。此外，亦有用超临界流体作为流动相的，称为超临界流体色谱；用表面活性剂作流动相的，称为胶束色谱。

二是按组分在两相间的分离机制分类。利用不同组分在吸附剂上的吸附能力不同而实现分离的方法，称为吸附色谱法；利用不同组分在固定液中的溶解度不同而实现分离的方法，称为分配色谱法；利用不同组分在离子交换剂上的亲和力大小不同而实现分离的方法，称为离子交换色谱法；利用组分的分子体积大小不同而在多孔固定相中的选择渗透而实现分离的方法，称为空间排阻色谱法或凝胶渗透色谱法。此外，以毛细管为分离通道，以电场为驱动力，利用不同组分在电介质溶液中电泳淌度的不同而实现分离的方法，称为毛细管电泳色谱法。

三是按固定相所处的"形态"分类。固定相装于柱内的色谱法，称为柱色谱法。柱色谱法又分为填充柱色谱法和毛细管柱色谱法。前者把固定相均匀填充在管内，后者一般把固定相附着在管壁，管中心形成一个细径孔道。固定相呈平面状的色谱法称为平板色谱，它又可分为纸色谱和薄层色谱，前者用滤纸作为固定相，后者将固定相涂布在载板上。

由于进行毒物分析的检材，尤其是生物检材常常含有各种杂质，且待测成分含量低，色谱法以其高效能的分离能力和高灵敏的检测性能成为毒物分析中应用最广泛的一类方法。

二、薄层色谱法

（一）基本原理

薄层色谱法（thin layer chromatography，TLC）属于液相色谱的范畴，在薄层色谱法中应用最广的为吸附色谱。它是将固定相涂布在载板上，使之形成均匀的薄层。将待分离的样品溶液点加在薄层板上离下沿约为 10 mm 的位置，将下沿向下，放入盛有深度约为 5 mm 的展开剂的密闭缸中，进行色谱展开，而实现混合物的分离。对被展开的色谱谱带（斑点），可通过适当的技术进行定性检测和定量测定。

在薄层色谱法中，最常提到的一个定性参数叫比移值（R_f）。在薄层分析中，一般采用的是定时展开（定时洗脱），即观测在同一展开时间内组分与展开剂迁移的距离。组分的迁移距离（L）与展开剂的迁移距离（L_0）之比称为比移值（R_f）。

$$R_f = L/L_0$$

在展开后的薄层板上，L 是由原点至某组分斑点中心的距离，L_0 是由原点至展开剂前沿的距离（图 4-19）。一般 R_f 值的最佳范围是 0.3～0.5，可用范围是 0.2～0.8。

比移值是薄层色谱的基本定性参数，它说明组分在色谱系统中的保留行为。在实验中需满足下述条件才能获得真实的 R_f 值：①展开室密闭不泄漏，薄层板周围空间被展开剂蒸气所饱和，无边缘效应；②沿分离轨迹，固定相与流动相均无梯度变化；③展开剂的前沿位置能正确测定。比移值的数值除与组分的性质有关外，还与薄层板的性质（活性等）、展开剂的性质（极性、组成等）和温度有

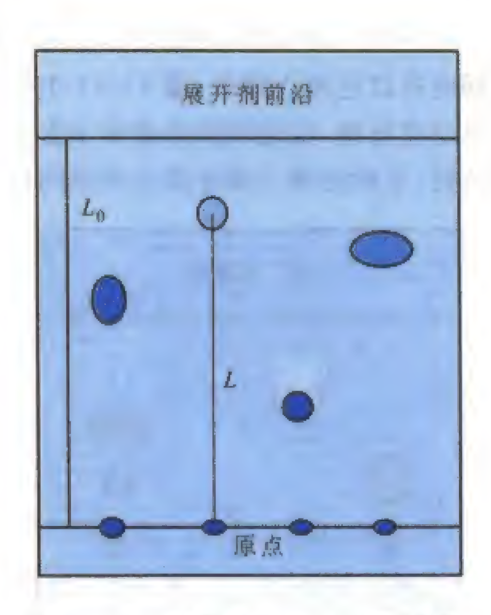


图 4-19 薄层展开和 R_f 值示意图

关。实验中当这些参数均已固定后，其数值仅取决于组分的性质。

（二）薄层色谱法操作

薄层色谱的一般操作程序可分为制板、点样、展开和显色四个步骤。

1. 制板 薄层板的好坏是分离是否成功的关键。好的薄层板要求吸附剂涂布均匀，表面光滑，厚度一致。现在已有许多商品预制板可供选择，但由于价格等原因，还经常需要自己制备薄层板。薄层板一般分为玻璃板、塑料膜板和金属铝箔板。板上涂布的吸附剂一般为硅胶 G 或硅胶 CMC，分为荧光型和非荧光型。

2. 点样 点样是获得成功分离和精确定量的关键步骤。溶解样品的溶剂对点样非常重要。应尽量避免用水作溶剂，因为水溶液斑点容易扩散，且不易挥发。一般用甲醇、丙酮、氯仿等挥发性有机溶剂，最好用与展开剂极性相似的溶剂。水溶液可先用少量水溶解，再用甲醇或乙醇稀释定容。一般来说，最适合的样品溶液浓度应为 1～5 μg/μL。

点样量是另一个关键因素，它影响展开后斑点的形状和位置。点样量的多少视薄层的性能及显色剂的灵敏度等而定，一般是几至几十微克。在检测灵敏度足够时，应降低点样量。点样量过大，展开后会出现斑点过大或拖尾等现象，影响分离效果。

3. 展开 薄层色谱的展开是在一个具有一定空间和形状的密闭室中（图 4-20），展开剂沿薄层板（固定相）运动，以实现样品混合物分离的过程。

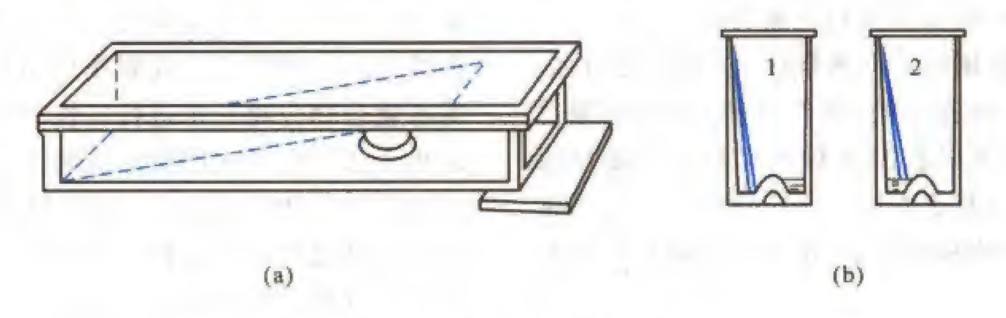


图 4-20 展开槽与展开方式（薄层板）

a. 卧式展开槽；b. 立式展开槽：①展开前蒸气预饱和过程；②展开过程

对于复杂组分的分离常常采用双向展开、多次展开等其他展开方式。多次展开可以采用同一种展开剂，这种多次展开的实际效果是增加了有效分离距离；为了分离不同极性的组分也可采用不同极性的展开剂系统，以达到增加分离度的目的。

4. 显色（定位） 薄层板展开后，对待测组分进行定性或定量前，需确定组分在薄层板上的位置，即定位。最简单的方法是在日光下观察并标出有色物质的色斑，或在紫外灯下观察有无紫外吸收或荧光色斑。另外也可以利用在荧光薄层板上待测物质产生荧光淬灭的暗斑进行定位。对于无色组分，一般是根据各种待测组分的性质，喷洒适宜的显

色剂与组分进行显色反应，使其显色而定位。

（三）薄层色谱法的应用

薄层色谱定性的依据是：在同一色谱条件下，相同组分的 R_f 值相同。常用的定性方法是已知物对照法。即将样品与已知物对照品在同一薄层板上展开，比较组分与对照品的 R_f 值。如果两者的 R_f 值不同，则组分与对照品不是同一物质；但如果两者的 R_f 值相同，也不能轻易肯定两者就是同一物质，必须用几种性质不同的展开剂或性质不同的吸附剂展开，若两者的 R_f 值仍一致，同时又对多种显色剂有相同的反应，这时说组分与对照品为同一物质才比较可靠。

薄层色谱定量最简单的方法是目视比较法。即将一系列已知浓度的对照品溶液点在同一薄层板上，展开并显色后，以目视法直接比较样品斑点与对照品斑点的颜色深度或面积大小，也可用测面仪直接测量斑点的面积。在严格控制色谱条件的情况下，斑点的颜色深度或面积随溶液浓度（或点样量）而变化。由此可测出样品的近似含量或含量范围。该法常用于半定量分析或限量检查，常规分析的精密度可达到±10%。比较准确的方法是使用薄层扫描仪器进行定量分析。

薄层色谱法具有灵敏度高、分离能力强、斑点集中、显色方便、操作方便、消耗低廉等优点，因此薄层色谱法对于毒物分析是比较实用的分离鉴定方法。已广泛应用于安眠镇静药物、精神麻醉药品、生物碱和农药的分析鉴定。

在仪器分析比较普及的今天，尽管用薄层色谱法定性显得繁琐一些，并且有些物质难以准确定性定量，但它仍是一种十分有效的样品分离制备和快速筛选的方法。图 4-21 显示的是使用薄层色谱法对血液样品中吩噻嗪类药物的筛选结果。展开剂是苯：二氧六环：二乙胺（7：2：1），显色剂为 40%硫酸。由于吩噻嗪类药物与硫酸反应呈橙红至紫红色，如果样品中有吩噻嗪类药物存在，不管是否是薄层图上点样的 3 种标准对照药物，在薄层板上样品都应有红色斑点显现，图 4-21 中样品没有红色斑点出现，就说明该样品中不含有吩噻嗪类药物，从而达到了快速筛选排除的目的。

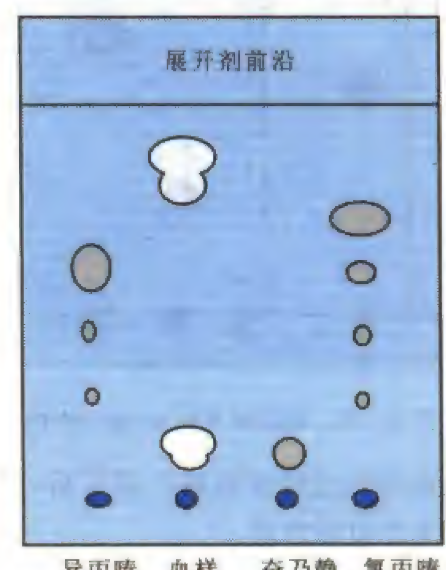


图 4-21 吩噻嗪类药物薄层筛选色谱图

三、气相色谱法

（一）基本原理

气相色谱法（gas chromatography，GC）是根据物质在相对运动的气相和固定相之间连续反复的吸附与解吸附作用而使进入体系的各化合物分离开来进行定性和定量的一种层析方法。与其他层析方法的主要区别在于流动相是气体，同时被分离的物质在层析时也必须是气体。在毒物分析中由于经各种分离方法分离的待测物中含有大量的杂质，要想得到正确的分析结果必须要使用具有分离功能的分析方法进行检测，因此气相色谱法在毒物分析中有着广泛的应用前景。

在进行气相色谱法分析时，样品经流动相冲洗通过色谱柱流经检测器所形成的浓度信号（常为电信号）随洗脱时间而绘制的曲线，称为色谱流出曲线（图 4-22）。色谱流出曲线上突起的部分称为色谱峰。正常色谱峰为对称的正态分布曲线。

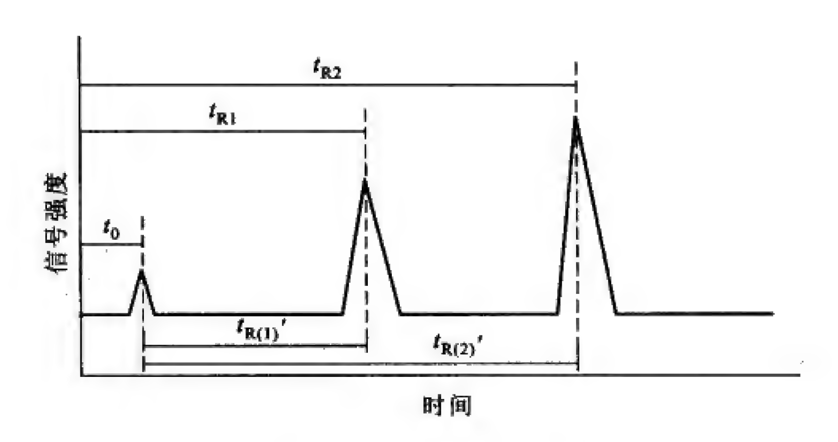


图 4－22 色谱流出曲线

图 4－22 中标出了色谱分析中常用的一些参数。保留时间(t_R)为从进样开始到某个组分的色谱峰顶的时间间隔，称为该组分的保留时间。图中 t_{R1} 及 t_{R2} 分别为组分 1 和组分 2 的保留时间。死时间(t_0)的定义为不被固定相吸附或溶解的组分的保留时间。通常用空气或甲烷测定。调整保留时间(t_R')为某组分由于溶解于固定相或被固定相吸附而比不溶解或不被吸附的组分在柱中相对多停留的时间。它与保留时间的关系如下：

$$t_R'=t_R-t_0$$

相对保留值($\alpha_{2,1}$)是指某组分 2 的调整保留值与组分 1 的调整保留值的比值。相对保留值与柱温、固定相性质有关，而与柱长、流动相流速等无关。

$$\alpha_{2,1}=t_{R(2)}'/t_{R(1)}'$$

保留指数(I)是把物质的保留行为用两个紧靠近它的标准物来标定，并用均一标度来表示。某物质的保留指数可由下式计算

$$I=100\left[Z+n\left(\frac{\lg t'_{r(x)}-\lg t'_{r(z)}}{\lg t'_{r(z+n)}-\lg t'_{r(z)}}\right)\right]$$

x 为被测物质，z 和 $z+n$ 分别为具有 z 个和 $z+n$ 个碳原子数的正构烷烃，n 为两个正构烷烃的碳原子数之差。被测物质的保留值应在这两个正构烷烃的保留值之间。

这些参数是气相色谱法对物质进行定性分析的基础。

（二）气相色谱仪

气相色谱仪主要由载气、稳压阀、进样器、色谱柱、恒温箱系统、检测器和色谱工作站组成(图 4－23)。其中色谱柱及检测器是色谱仪的两个主要组成部分。现代气相色谱仪广泛应用计算机和相应的色谱软件，它不仅具有处理数据、打印报告等功能，还可按程序控制色谱操作条件，完成自动分析的任务。

1. 检测器　气相色谱仪上常用的检测器主要有氢焰离子化检测器(FID)、电子捕获检测器(ECD)、火焰光度检测器(FPD)和碱盐离子化检测器(NPD)，其各具特色。其中氢焰离子化检测器(FID)对烃类物质有较大的响应；而对非烃类物质或不宜生成自由基的物质只有较小的响应或没有响应。

电子捕获检测器(ECD)是一种专属性检测器。它对含卤素、硫、氧、硝基、氰基、共轭双键体系、有机金属化合物均有很高的检测响应值，但对烷烃、烯烃和炔烃的响应值很低。这种检测器线性范围窄，分析重现性差。

火焰光度检测器(FPD)是一种对硫、磷化合物具有高选择性和高灵敏度的检测器。多用于大气痕量污染物的分析以及水、农副产品中有机磷和有机硫农药残留量的测定，

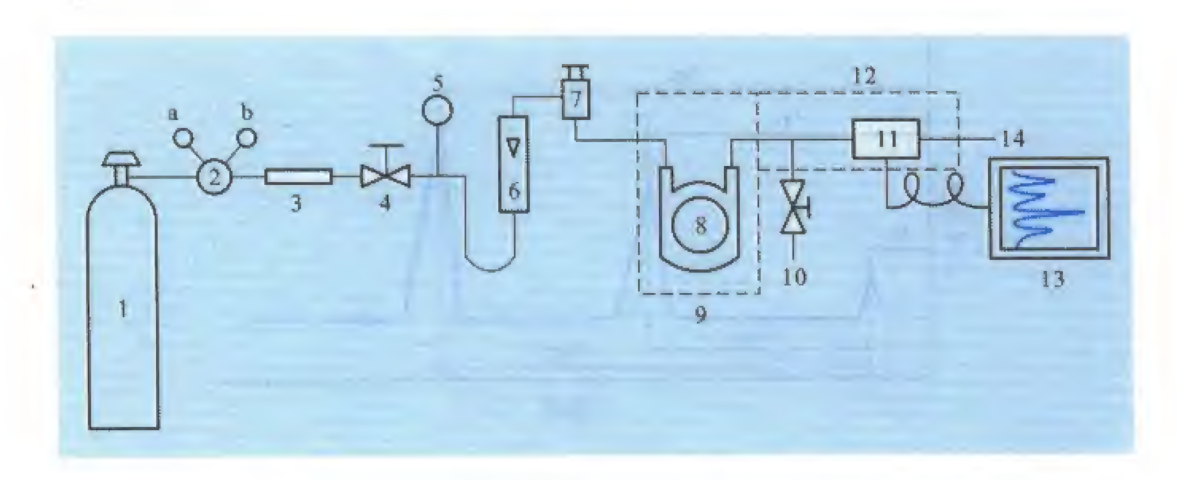


图 4-23 气相色谱仪示意图

1. 载气瓶;2. 压力调节器(a. 瓶压;b. 输出压力);3. 净化器;4. 稳压阀;5. 柱前压气表;6. 转子流量计;
7. 进样器;8. 色谱柱;9. 色谱柱恒温箱;10. 馏分收集口(柱后分流阀);11. 检测器;
12. 检测器恒温箱;13. 记录器;14. 尾气出口

还用于司法鉴定中有机农药的测定。

碱盐离子化检测器又称氮磷检测器(NPD),因为它对含氮、磷等杂原子的有机化合物具有高选择性和灵敏度,因此在农药和药物分析等方面得到较为广泛的应用,该检测器的检测限达 10^{-12}～10^{-13},线性范围达 10^3。

2. 色谱柱　色谱柱一般分为填充柱(packed column)和毛细管柱(capillary column)两大类型。在气相色谱法中,填装了固定相的色谱柱叫填充柱。通常柱长 1～3 m,内径 3～6 mm,一般为玻璃柱或不锈钢柱。气-液色谱的固定相是由担体和固定液所构成的。支撑固定液的惰性多孔固体称为担体(又称载体)。它可提供大的惰性固体表面,让固定液分布在上面形成一均匀的液膜,使固定液具有比较大的物质交换表面,易于样品在气液间建立分配平衡。气相色谱用的担体种类很多,大体可分为两大类即硅藻土型和非硅藻土型。固定液一般为具有高沸点的热稳定性和化学稳定性的有机化合物,把它涂布在担体上所形成的固体称为色谱填料(有时也叫固定相)。毛细管柱是用玻璃或熔融石英拉制成毛细管的色谱柱。柱长一般为 20～50 m,内径0.1～0.5 mm。常分为填充毛细管柱和开口毛细管柱两大类。

在实际毒物分析工作中,不论填充柱还是毛细管柱,决定其选择性和特异性的是固定液,因此色谱柱的型号如 SE-30、OV-17、DB-1 等表达的都是色谱柱中装填或涂布的固定液的型号。根据“相似相溶”的原则,通常选用与组分在极性、官能团和化学性质等方面相似的色谱柱进行毒物分析,以便得到较好的分离效果。

(三) 气相色谱法的应用

1. 利用保留值定性　各种物质在一定的色谱条件下均有确定不变的保留值,因此保留值可作为一种定性指标,是较常用的色谱定性方法。这种方法只需在色谱柱和操作条件不变时,比较保留时间就可判断组分的异同。但由于不同物质在相同的色谱条件下往往具有近似或完全相同的保留时间,因此这种方法的应用有很大的局限性。该法仅限于当未知物通过其他方面的实验已被确定为某几个化合物或属于某种类型时作最后的确定,不足以鉴定完全未知的物质。如仅用 GC 法定性,应选择两种不同极性的色谱柱

或两种检测程序，均获得相同的保留时间时才可作出肯定结论，但最好以两种方法验证分析。

2. 利用相对保留值和保留指数定性　在实际工作中会发现，尽管固定相相同，但由于填充密度、固定液配比、担体惰性、柱使用时间及其他操作条件的差别，同一组分的保留值不同。相对保留值仅与柱温有关，不受操作条件的影响，可以消除操作条件不一致带来的误差。保留指数是一种重现性较其他保留数据都好的定性参数，其精度可达±0.03个指数单位。保留指数仅仅与柱温、固定液性质有关，与色谱条件无关。国内外气相色谱手册中都列有许多化合物的相对保留值和保留指数，可用于定性。

在测定未知物的保留指数时，仍然需要知道未知物属于哪一类，然后根据类别查找文献中所规定的固定相与柱温条件，测得未知物的保留值，其定性结果是一个可信区间。

3. 利用检测器的选择性定性　不同类型的检测器对各种组分的选择性和灵敏度不同。在毒物分析中，FID对大多数有机毒物都有响应，是通用性检测器，但其灵敏度较低。而NPD则对含氮、磷的有机毒物有响应，包括含氮药物、生物碱及有机磷农药等，是毒物分析中常用的选择性检测器。ECD则对含有卤素、氧、氮及其他一些电负性大的元素或离子团的有机化合物有响应。特别是含卤素的化合物。所以我们可以根据待测物的结构选择不同的检测器进行定性分析。

4. 利用两谱联用定性　气相色谱具有很高的分离效率，红外吸收光谱、质谱等是鉴别未知物结构的有力手段，但其本身不具分离能力，为此人们将气相色谱作为分离工具，将红外分光光度计或质谱仪作为气相色谱的检测器，承担定性任务，这就构成了两谱联用装置。常用的联用方式为在线联用即将气相色谱仪与质谱仪或红外光谱仪等联合制成一台完整的仪器使用。目前比较成熟的在线联用仪器有：气相色谱/红外光谱联用仪。它将气相色谱分离出的各组分，通入傅里叶变换红外光谱仪中，绘制出各个组分的红外光谱图。利用红外光谱图进行定性。另一种是气相色谱/质谱联用仪。由于质谱仪灵敏度高、扫描速度快并能够准确测定出未知物的相对分子质量，因此气相色谱/质谱联用技术是目前解决未知物定性问题的最有效的工具之一。

5. 气相色谱定量分析　使用气相色谱仪可以对样品中的待测组分进行准确的定量分析。色谱定量分析是依据待测组分的质量或其在载气中的浓度与检测器的响应信号成正比。对普遍应用的微分性检测器来说，物质的质量(m)正比于色谱峰面积(A)或峰高(h)：

$$m_i = f_i \cdot A_i$$

式中 f_i 称为组分 i 的校正因子，即单位色谱峰面积所代表的组分量，通常用已知量的标准对照品的色谱峰面积求出校正因子。而色谱峰面积一般由色谱工作站直接给出。

色谱中常用的定量方法有外标法和内标法。

外标法：所谓外标法就是应用欲测组分的纯物质来制作标准工作曲线。即配制不同浓度的欲测组分的标准样品，在相同的操作条件下分别注入相同的量测得响应值(峰面积或峰高)。然后绘制响应值与含量关系的校正曲线。在相同条件下，注入相同体积的被测样品，测得响应值，再从校正曲线上查得含量。此法的优点是操作简单，计算方便。但结果的准确度受进样量重现性和操作条件稳定性的影响。

内标法：若测定样品中一个或几个组分的含量，可以把一定量的某一种纯物质加入到样品中作为内标物，然后进行色谱定量计

算。通过测出内标物的峰面积和欲测定的组分峰面积，计算该组分含量的方法叫做内标法。例如测定试样中组分 i（质量为 m_i）的质量分数 w_i，可于试样中加入质量为 m_s 的内标物，试样质量为 m，则：

$$w_i=\frac{m_i}{m}\times100\%=\frac{f_iA_i}{f_sA_s}\cdot\frac{m_s}{m}\times100\%$$

一般常以内标物为基准，则 $f_s=1$，此时计算可简化为

$$w_i=\frac{A_i}{A_s}\cdot\frac{m_s}{m}\cdot f_i\times100\%$$

由上式可以看到，内标法是通过测量内标物及欲测组分的峰面积的相对值来进行计算的。因而由操作条件而引起的误差，都将同时反映在内标物及欲测组分上而得到抵消，所以可得到较准确的结果。但每次分析都要准确称取试样和内标物的重量，操作繁琐，不宜于作快速分析。

6. 气相色谱法在毒物分析中的应用气相色谱法是目前应用最广的仪器分析方法之一，已被广泛应用在现代毒物分析工作中。凡是具有热稳定性和易挥发的有机药毒物，均可以使用气相色谱进行检测，即使是极性较强或难挥发的药毒物，也可通过衍生化反应，使其成为极性较小且易挥发的衍生物后进行分析。图 4－24 所示的是使用氮磷检测器检测几种苯二氮䓬类药物的色谱图。气相色谱法目前主要用在医用有机药物、安眠镇静药物、农药、部分杀鼠药和生物碱的定性和定量分析方面。

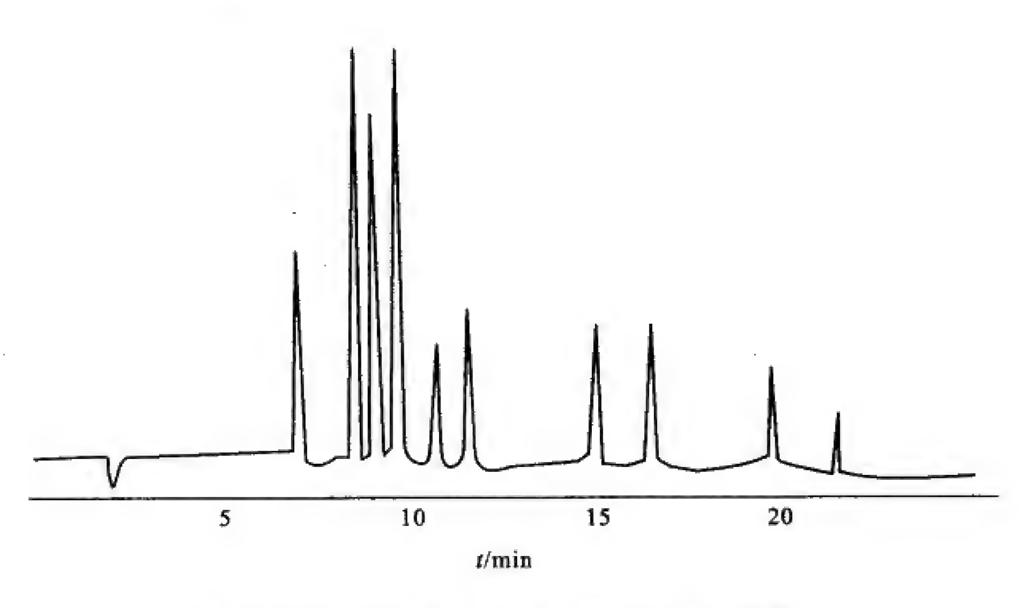


图 4－24 几种苯二氮䓬类药物 GC/NPD 色谱图

四、高效液相色谱法

（一）基本原理

高效液相色谱法（high performance liquid chromatography，HPLC）是以液体为流动相的色谱分析方法。高效液相色谱法是在经典液相柱色谱的基础上，引入气相色谱分析的理论和实验方法，发展而成的分离分析方法。根据操作方式不同，液相色谱可分为柱色谱、薄层色谱和纸色谱。本章主要讨论柱色谱分析方法。该法具有分离效能高、分析速度快及仪器化等特点。高效液相色谱法由于将样品制成溶液，而不必汽化，所以不受样品的挥发性和热稳定性的限制。适宜于分析一些挥发性低，热稳定性差、相对分子质量大的高分子化合物及离子型化合物（表 4－2）。样品的相对分子质量可从 300～2 000（不包括空间排阻法）。适宜于分析在生物学和医药

上有重要意义的大分子、不稳定的天然产物以及相对分子质量较大的化合物、离子性物质。

（二）高效液相色谱仪

表 4－2　气相色谱与高效液相色谱的比较

项　目	高效液相色谱法	气相色谱法
进样方式	样品制成溶液	样品需加热气化或裂解
流动相	液体流动相可为离子型、极性、弱极性、非极性溶液，可与被分析样品相互作用，并能改善分离度	气体流动相为惰性气体，不与被分析的样品发生相互作用
固定相	1. 分离机制：可依据吸附、分配、筛析、离子交换、亲和等多种原理进行样品分离，可供选用的固定相种类繁多 2. 色谱柱：固定相颗粒度小，为 5～10 μm；填充柱内径为 3～6 mm，柱长 10～25 cm，柱效为 10^3～10^4；毛细管柱内径为 0.01～0.06 mm，柱长为 5～10 m，柱效为 10^4～10^5，柱温一般为常温	1. 分离机制：依据吸附、分配两种原理进行样品分离，可供选择的固定相种类较多 2. 色谱柱：固定相颗粒度大，为 0.1～0.5 mm；填充柱内径为 1～4 mm，柱长 1～4 m，柱效为 10^2～10^3；毛细管柱内径为 0.1～0.3 mm，柱长为 10～100 m，柱效为 10^3～10^4，柱温为常温～300℃
检测器	选择性检测器：UVD，DAD，FD，ECD 通用型检测器：ELSD，RID	选择性检测器：ECD*，FPD，NPD 通用型检测器：TCD，FID（有机物）
应用范围	可分析低相对分子质量低沸点样品；高沸点、中分子、高分子有机化合物（包括极性、非极性）；离子型无机化合物；热不稳定，具有生物活性的生物分子	可分析低相对分子质量、低沸点有机化合物；永久性气体；配合程序升温可分析高沸点有机化合物；配合裂解技术可分析高聚物

注：UVD－紫外吸收检测器；DAD－二极管阵列检测器；FD－荧光检测器；ECD－电化学检测器；RID－折光指数检测器；ELSD－蒸发激光散射检测器；ECD*－电子捕获检测器；FPD－火焰光度检测器；NPD－氮磷检测器；TCD－热导池检测器；FID－氢火焰离子化检测器。

高效液相色谱仪是实现液相色谱分离分析过程的装置，由输液泵、进样器、色谱柱、检测器及色谱工作站等组成，图 4－25 是高效液相色谱仪的结构系统。

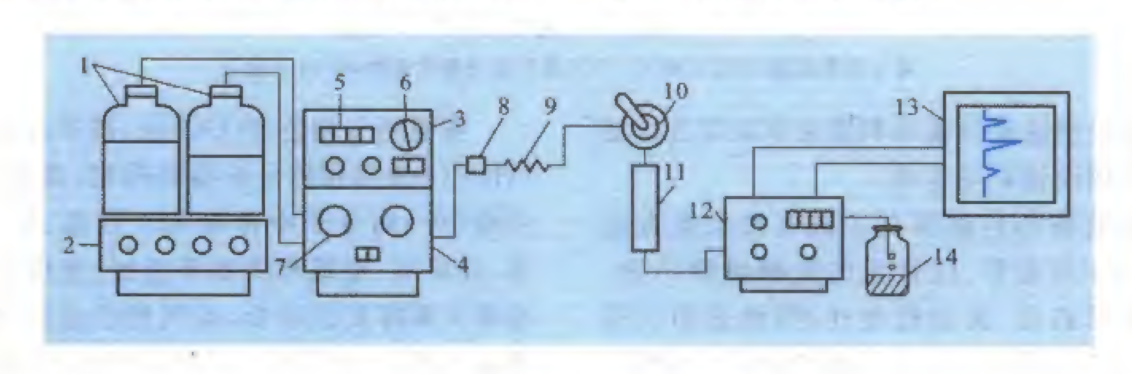


图 4－25　高效液相色谱仪的组成

1. 储液罐；2. 脱气装置；3. 梯度淋洗装置；4. 高压输液泵；5. 流动相流量显示；6. 柱前压力表；7. 输液泵泵头；8. 过滤器；9. 阻尼器；10. 六通进样阀；11. 色谱柱；12. 检测器；13. 色谱工作站；14. 废液收集罐

贮液器中贮存的载液(用作流动相的液体,常需除气)经过过滤后由高压泵输送到色谱柱入口,当采用梯度洗脱时,一般需要双泵系统来完成输送。样品由进样器注入载液系统,而后送到色谱柱进行分离。分离后的组分由检测器检测,输出信号供给记录仪或数据处理装置。其中输液泵、色谱柱及检测器是仪器的关键部分。

高效液相色谱的检测器与气相色谱所用的检测器一样,作用都是反映色谱过程中组分浓度变化的部件。同样要求具有灵敏度高、噪声低、线性范围宽、重复性好、适用性广等条件。目前应用较多的有紫外可见检测器、示差折光检测器、荧光检测器及电化学检测器等。

(三) 高效液相色谱法的应用

高效液相色谱法可分为吸附色谱、分配色谱、离子交换色谱及空间排阻色谱四类。其定性分析方法可分为色谱鉴定法及非色谱鉴定法两大类:

色谱鉴定法就是利用纯物质和样品的保留时间或相对保留时间相互对照,进行定性分析,是已知范围的未知物常用的鉴定方法。常用的方法有已知物对照法、相对保留值定性法、保留指数定性法、利用多柱定性法和利用光电二极管阵列检测器定性法。图 4-26 是敌鼠中毒的兔尿液的 HPLC 色谱图,尽管峰 2～12 的保留时间与敌鼠的(峰 13)相差很大,但其在光电二极管阵列检测器上的 UV 吸收光谱图与原形物敌鼠相似,因此可以推断出可能为敌鼠在兔体内的分解代谢物。

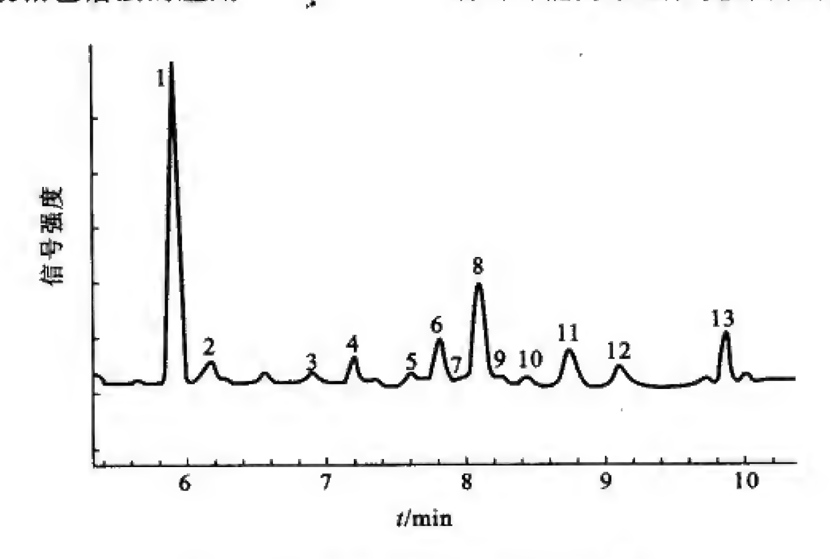


图 4-26 敌鼠中毒兔尿的 HPLC 图谱

峰 1 为香豆素(内标),峰 2～12 均为敌鼠分解代谢物,峰 13 为敌鼠

非色谱法定性就是利用化学反应进行定性和利用两谱联用定性。

高效液相色谱法在法医毒物检验有着广阔的应用前景,除常见的安眠镇静药物、精神麻醉药品、医用药物外,特别适用于抗凝血类杀鼠药,大分子生物碱和水溶性毒物的分析。

HPLC 常用的定量方法为外标法和内标法,其基本检测方法和要求同气相色谱法。

(四) 衍生化技术在色谱法中的应用

在使用气相色谱(GC)法、高效液相色谱(HPLC)法等仪器分析检测药物、毒物时,有些毒(药)物分子中含有几个羟基、巯基、氨基、亚氨基、羧基和羰基等基团,使得分子极性较大而挥发性较低,给气相色谱法的应用带来困难;而在高效液相色谱法中,常用紫外及荧光检测器,这类检测器均属于选择性检测器,要求被检测化合物具有紫外吸收,有些药(毒)物本身没有紫外吸收就难于检测。为了分析难于直接利用气相色谱法和高效液相

色谱法分析的药(毒)物,衍生化技术的应用便成为一种有效的方法。同时通过化学衍生化方法还能提高检测灵敏度,并且有利于进一步分离组分及除去某些杂质。

化学衍生化方法是指在一定条件下利用某种特定试剂(叫做标记试剂)与药(毒)物样品发生化学反应,使反应产生的衍生物有利于在色谱仪上进行分离或检测。所选用的衍生化反应必须满足以下几个条件:①反应速度快;②反应定量进行,有良好的重复性;③衍生化产物单一,易纯化;④所用的衍生化试剂与其衍生化产物能在色谱柱上能被分离。⑤衍生化试剂对检测器无响应或响应弱。

1. 气相色谱法中常用的衍生化方法　在气相色谱法中,采用衍生化反应的目的在于:增加待测物的挥发度;增加待测物的热稳定性;改善待测物的色谱行为或增加待测物的检测灵敏度和选择性。一般的衍生化反应针对待测物的羟基、巯基等基团上的活泼氢,使之被其他基团所取代,其结果就能满足气相色谱分析的要求,常用的反应有硅烷化、酰化和酯化等。

(1) 硅烷化反应　组分中的活泼氢被烷基-硅基取代后,可生成极性低、挥发性高和热稳定性好的硅烷基化合物,其原理如下:

$$\begin{array}{lcl} -OH & & -O-SiR_3 \\ -COOH & & -COO-SiR_3 \\ -SH & +TMS\text{给予体} & -S-SiR_3 \\ -NH_2 & & -NH-SiR_3\text{ 或 } -N-[SiR_3]_2 \\ -NH & & =N-SiR_3 \end{array}$$

硅烷化试剂容易吸潮水解,故反应在干燥、密闭的小容器内进行,所用试剂做好用前脱水处理,硅烷化试剂本身有时就可作为反应的溶剂使用。常用的硅烷化试剂及其性质见表4-3。

表4-3　常用硅烷化试剂

试剂名称	缩写	沸点(℃)	用途
三甲基氯硅烷	TMCS	56~57	很少单独使用,多用于增加硅烷化能力
六甲基二硅氮烷	HMDS	124~127	多与TMCS混用于醇、酚
六甲基二硅氧烷	HMDSO	99~101	用于醇类
N-三甲基甲硅烷二乙基胺	TMSDEA	127~129	用于氨基酸、胺类、酰胺、醇
1-三甲基甲硅烷咪唑	TSIM	90~92	用于羟基
N-甲基-*N*-三甲基甲硅烷乙酰胺	MSA	159~161	用于糖类、胺类、氨基酸
N,*O*-双三甲基甲硅烷乙酰胺	BSA	71~73	通用试剂,常加1%TM-CS
N-甲基-*N*-三甲基甲硅烷三氟乙酰胺	MSTFA	130~132	与BSTFA相同
N,*O*-双三甲基甲硅烷三氟乙酰胺	BSTFA	47	副产品比用BSA的副产品易于挥发,常加1%TM-CS
氯甲基二甲基氯硅烷	CMDMDS	110~113	用于甾族、糖类、酚酸

硅烷化法在毒(药)物的GC法分析中运用很广,如:三唑仑和阿普唑仑在体内分别代谢为α-羟基三唑仑和α-羟基阿普唑仑,欲测定其尿中含量,可用TMS或TB-DMS衍生化后,用GC-MS和GC-NPD检测。

(2) 酰化反应　结构中含有胺基、羟基、巯基的胺类和酚类毒(药)物,其活泼氢可被

酰基取代生成极性低、挥发性高的衍生物，此法又可分为酸酐法和卤代酰基法。

① 酸酐法　此法是用含有酸酐的吡啶或四氢呋喃制成酰化试剂，其衍生化反应的原理为：

$$\begin{matrix} RNH_2 \\ ROH \\ RSH \end{matrix} \xrightarrow{(R'-CO)_2O} \begin{matrix} RNCOR' \\ ROCOR' \\ RSCOR' \end{matrix}$$

② 卤代酰基法　用于此方法的酰化试剂有乙酰氯、苯甲酰氯、三氟乙酸酐、五氟丙酸酐、三氟乙酰咪唑、七氟丁酰咪唑等，衍生化产物有利于使用电子捕获检测器。

酰化反应法常用于毒品的分析中，如测定尿中吗啡及其代谢产物 O^6 -单乙酰吗啡（O^6 - MAM），常用乙酸酐、三氟乙酸酐、三甲基硅三氟乙酰胺与其—OH 反应，而后用 GC - MS 法检测；另外，酚类毒物的检测也可用此法。如测定除草剂五氯酚，可用醋酸酐乙酰化生成五氯酚乙酯后用 GC - ECD 法检测。

(3) 酯化反应　酯化反应特别有利于制备羧基的衍生物，故常用于含羧基的药（毒）物的前处理中，其方法有重氮烷烃法、卤化硼催化法、氢氧化铵盐分解法和无机酸催化法，其原理如下：

重氮烷烃法：$RCOOH + CH_2N_2 \rightarrow RCOOCH_3 + N_2$

卤代硼催化法：

$$RCOOH + CH_3OH \rightarrow RCOOCH_3 + H_2O$$

HCl 或 H_2SO_4 催化法：

$$RCOOH + CH_3OH \rightarrow RCOOCH_3 + H_2O$$

氢氧化铵盐分解法：

$$RCOOH + (CH_3)_4NOH \rightarrow RCOON(CH_3)_4 + H_2O$$

$$RCOON(CH_3)_4 \xrightarrow[\triangle]{HCl 或 H_2SO_4} RCOOCH_3 + (CH_3)_3N$$

此类方法多用于非挥发性有机酸及某些高级脂肪酸药（毒）物的分析。

2. 高效液相色谱法中常用的衍生化方法　运用高效液相色谱法分析某些在紫外区无吸收或无荧光特征的药（毒）物时，我们常将其与带有紫外吸收基团的衍生化试剂或荧光衍生化试剂反应，使之能够被紫外检测器或荧光检测器所检测，达到分析检测的目的。

(1) 与紫外衍生化试剂反应　在高效液相色谱法中，紫外可见光检测器是一种常见的高灵敏检测器。为了使一些无紫外吸收的药（毒）物能用 HPLC - UV 法测定常采用这一衍生化方法。常见的紫外衍生化试剂多为含有苯环的高共轭芳香族化合物，使其衍生化产物能产生很强的紫外吸收。

这一方法常用于药物的分析检测中。如用 HPLC 法分离检测氨及脂肪胺类药（毒）物，可在 $NaHCO_3 - Na_2CO_3$ 溶液中，用异硫氰酸苯脂与样品在 40℃ 发生衍生化反应，得到苯基硫脲而测定。

(2) 与荧光衍生化试剂反应　在 HPLC 法中，荧光检测器的灵敏度比紫外检测器的灵敏度要高 10 倍至 1 000 倍，一般检测限为 $10^{-12} \sim 10^{-14}$ mol，因此，常用于检测痕量物质。而对于非荧光药（毒）物的痕量检测，衍生化的方法显得非常必要。常用的衍生化试剂有荧光胺、丹酰氯、邻苯二甲醛、香豆素、芴代甲氧苯酰氯等。

这一方法曾被用于砷及其代谢物的含量测定，先使 As 及其代谢物水解产生甲胺再与衍生化试剂 OPTA - ERC 反应生成强荧光物质 1 -(2 -羟乙基)硫基- 2 -甲基吲哚而后用 HPLC -荧光检测器检测。

随着 GC，HPLC 的广泛应用，化学衍生法也得到了进一步发展，现已应用于紫外分光光度法，毛细管电泳分离-荧光检测法等许多分析方法中，随着微波衍生等新技术的发展，当前所采用的衍生化方法普遍存在的反应条件较苛刻，反应速度较慢等缺陷将逐渐被克服。

第三节　质谱法

一、质谱法的基本原理

质谱是把热电子轰击到气态物质上，产生带电荷的离子后，进一步使带电荷的离子裂解成一系列的碎片离子，再通过磁场的作用使生成的各种离子按其质量电荷比(简称质荷比，m/z)的大小排列而成的图谱。通过样品的质谱来进行成分和结构分析的方法称为质谱分析法。

质谱分析法的基本过程如图4-27所示。样品通过进样系统进入离子源，采用一定的离子化手段使样品分子电离成各种不同质荷比的碎片离子，这些碎片离子被加速进入质量分析器，在质量分析器中按质荷比大小被分离并依次被检测器检测，经信号处理、记录得到样品的质谱。

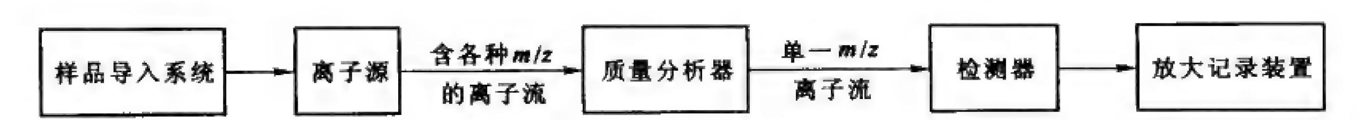


图4-27　质谱分析的基本过程

质谱表示的是化合物在离子源中形成的各种离子质荷比的强度分布。由于这些离子通常仅带有一个单位电荷，故质谱表示的是化合物离子的质量和离子的丰度。质谱的表示方式很多，常用的是经计算机处理后的棒图(bar graph)及质谱表。

棒图是通过计算机对实际记录的质谱进行处理所获得的谱图，图4-28即为药物苯巴比妥的棒图。棒图中横坐标为质荷比(m/z)，表示离子峰位置，纵坐标为离子相对强度(丰度，ion abundance)，表示离子数目多少。质谱中离子相对强度的表示方法通常是以最强峰(称为基峰)强度为100，以相当于基峰的峰高百分比表示其他离子峰的强度。

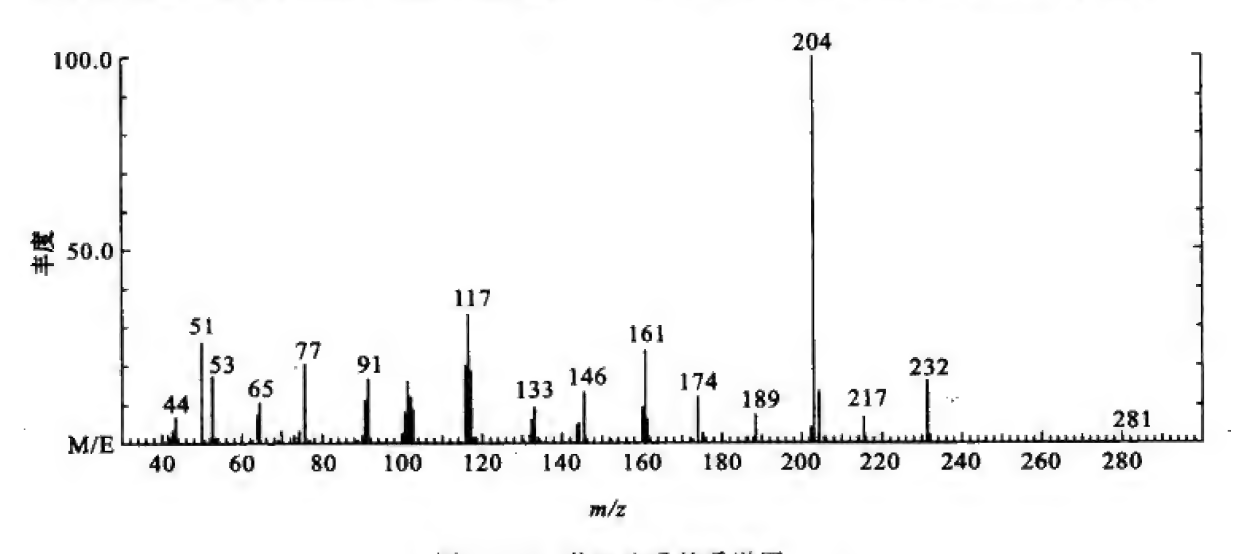


图4-28　苯巴比妥的质谱图

质谱表是按质荷比顺序排列的表格形式。八峰值是指由化合物质谱中选出八个相对强峰，以相对峰强为序编成八峰值，作为该化合物的质谱特征，用于定性鉴别。

高分辨质谱仪常以元素表表示。高分辨质谱仪可以测得离子精密质量，经计算机运算、对比，可给出分子式及其他各种离子的可能化学组成，以表格形式列出每一

离子的精密质量、相对丰度以及可能的元素组成。

不同的样品由于结构性质和成分的不同,在离子源中电离形成不同质荷比和不同相对强度的离子碎片,因此,根据样品质谱中质谱峰的位置可以进行定性分析,根据质谱峰的强度可以进行定量分析,根据质谱提供的信息可以进行结构分析。

二、质谱仪

质谱仪由样品导入系统、离子源、质量分析系统、离子检测系统和真空系统五部分组成。

离子源的作用是将样品分子或原子电离成离子。离子源的种类很多,有电子轰击源(EI)、化学电离源(CI)、场致电离源(FI-FD)、快原子轰击源(FAB)等,目前最常用的是电子轰击源和化学电离源。

质量分析系统的作用是将离子源中产生的样品离子按质荷比大小进行分离检测。根据质量分析系统的不同,质谱仪可分为动态质谱仪和静态质谱仪两大类。静态质谱仪使用的电场、磁场等参数不随时间改变即可实现质量分离,随时间而改变的一些参数是为了记录谱图,并非质量分离的要求,如扇型磁场质谱仪。动态质谱仪是采用随时间而周期性变化的电场实现质量分离的仪器,如四极杆质谱仪、飞行时间质谱仪、离子阱质谱仪等。

离子检测系统包括离子检测器、信号放大器、记录和数据处理装置。最常用的检测器是电子倍增器。其基本工作原理是一定能量的离子打到电极的表面,产生二次电子,二次电子又受到多极倍增放大,增益可达 10^5 以上,然后输出到放大器,放大后的信号送入记录和数据处理装置。

真空系统。质谱仪器必须在高真空条件下进行工作。否则离子在产生后从质量分离到收集的整个过程中会与其他残余气体分子发生碰撞,而损失一部分能量,造成运动轨迹偏离、灵敏度减弱和分辨率降低。真空系统可采用扩散泵和机械泵,目前普遍采用的是无油高真空泵,即分子涡流泵。一般来讲,质谱仪的真空值越低,仪器的检测灵敏度越高。

质谱仪的主要性能指标有分辨率、质量范围和灵敏度。

三、质谱仪的应用

质谱分析主要用于化合物的定性和测定分子结构,也可用于混合物含量测定。对已知化合物,常将所测化合物的质谱用八峰值索引进行检索,以确定结构。质谱仪通常配有计算机质谱库检索系统,可自动进行检索,将所测化合物的质谱与谱库中已知化合物的标准质谱进行比较,并列出与最为接近的几种化合物结构,大大提高了推测化合物结构的效率。由于适用于质谱仪的 NIST 标准谱库中存有近 30 万张化合物质的质谱图,因此质谱法是一种比较可靠的有机化合物定性方法,同时也是研究分子结构的有效方法。其主要优点是灵敏度高,所需样品量少(可达 pg 级),可提供多维结构信息,分析速度快,可与色谱法联用,因此在药物、毒物分析领域得到广泛应用。

第四节 两谱联用技术

光谱法和质谱法在实际应用中虽然具有灵敏度高、定性能力强、可以给出化合物分子结构信息等特点,但其均对试样纯度有较高的要求,不适于混合物的直接分析。色谱法则是混合物分离的非常有效的手段,具有分离效率高、定量分析简便等特点,但由于受检测器的限制,它们对分离所得化合物的定性能力却较差。而将色谱法和质谱法或光谱法两谱联用,不仅可充分发挥各自的优点,而且还可弥补相互的不足。目前色谱/质谱联用

技术，色谱/光谱联用技术已成为复杂混合物分析，尤其是定性分析的重要手段。其中发展得最成熟、应用最广泛的是气相色谱/质谱联用技术和气相色谱/红外光谱联用技术。而在毒物分析中主要应用的是色谱/质谱联用技术。

一、气相色谱/质谱联用

气相色谱/质谱(GC－MS)(图 4－29)分析方法一般是根据在总离子流色谱(TIC)检测中所得到的待测组分的质谱图并辅以该组分的 TIC 保留时间进行定性分析的。图 4－30和图 4－31 显示的一个海洛因样品的 TIC 图和 TIC 图中海洛因组分的质谱棒图。可以看出经过气相色谱分离，海洛因样品中的各组分都得到较好的分离，并可分别被质谱定性。



图 4－29　气相色谱/质谱联用(GC－MS)仪实图

在进行 GC－MS 分析时，有时会出现色谱峰分离不完全或重叠的现象，使用质量色谱图或选择离子监测(SIM)进行判断是十分有效的手段之一。

质量色谱图是在 TIC 色谱中具有某质荷比的离子强度随时间变化的曲线。在选定的质量范围内，任何一个质量数都有与总离子流相似的质量色谱图，如图 4－32 所示。

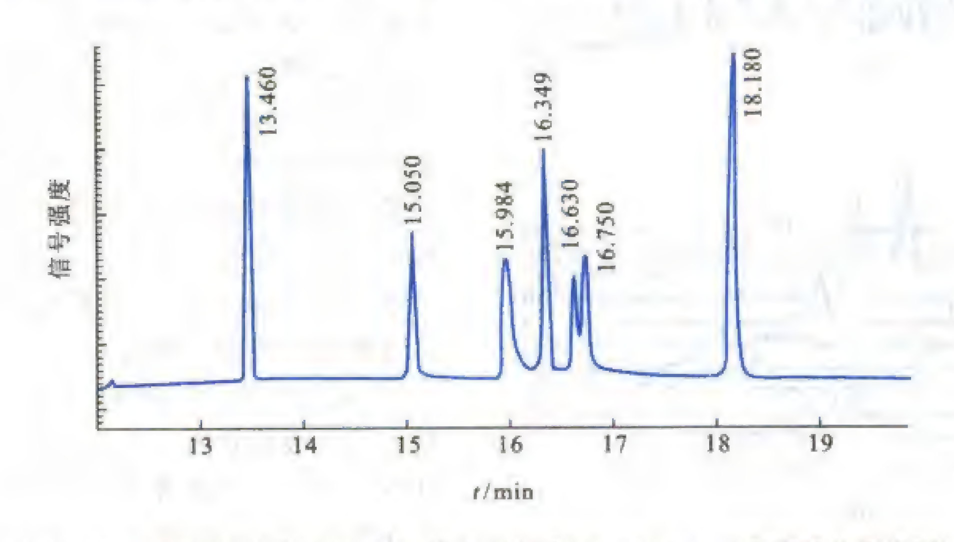


图 4－30　海洛因样品的 GC－MS 总离子流图(18.180 min 的色谱峰为海洛因)

质量色谱图可分离鉴别在 TIC 色谱中分离不完全、色谱峰重叠的组分。

选择离子监测方法就是对预先选定的某个或多个特征质量峰进行单离子或多离子检测，记录其离子流强度随时间变化曲线，获得选择离子色谱图，又称质量碎片图(MF)。由于重复扫描，SIM 方式的检测灵敏度比总离子流检测高二至三个数量级。此外，采用选择离子检测还能分辨某些重叠色谱峰。

在现代毒物分析中，对于药(毒)物的定性分析，GC－MS 法是一种十分重要和准确的确认方法。与气相色谱法不同的是它以气相色谱为分离手段，以质谱为检测器，克服了气相色谱和质谱各自的应用缺陷，使法医毒物分析的水平得到极大地提高。

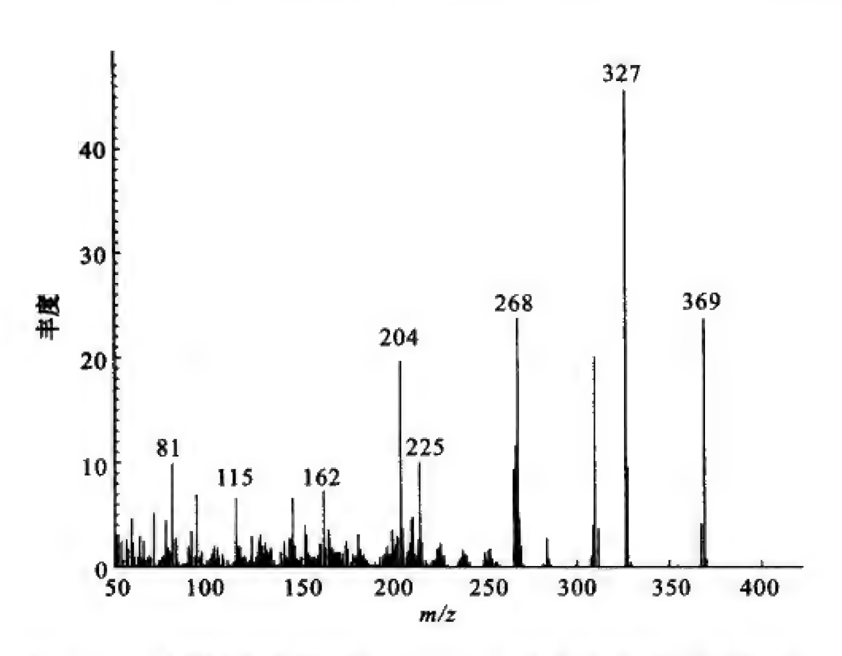
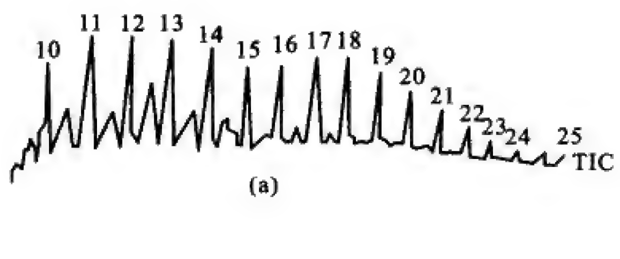


图 4-31 色谱峰保留时间为 18.180 min 的海洛因成分的质谱图



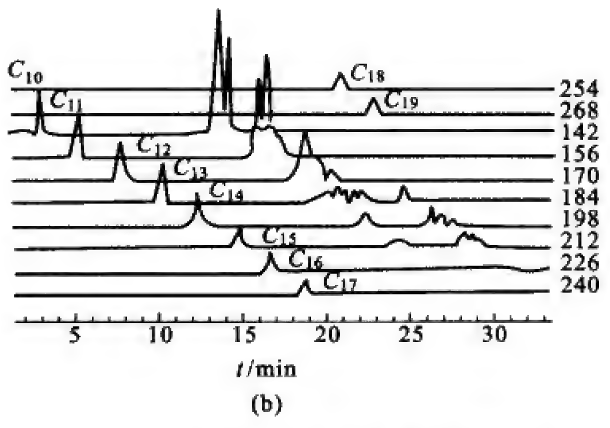


图 4-32 一种轻油的总离子流色谱图(a)和质量色谱图(b)

二、质谱/质谱联用

质谱/质谱联用(MS-MS)是一种新兴的分析技术，它由二级以上的质谱仪串联而成，又称串联质谱法。质谱/质谱联用是融分离和鉴定为一体的分析方法，尤其适合于痕量组分的分离和鉴定。

质谱/质谱联用仪由两级质谱仪经碰撞室串联而成。试样首先在第一级质谱仪的离子源中裂解成各种离子，由一级质谱仪对这些试样离子进行质量分析，从中选出待测母离子，将母离子导入碰撞室中进一步裂解形成子离子，子离子被全部导入第二级质谱仪中进行质量分析，便可得到母离子碎片的质谱。图 4-33 中，A 是杀虫剂氯丹(Chlordane)的一级质谱图；B 是从 A 中选择出的待测母离子 m/z 为 373 的质谱图；C 是 m/z 为 373 的母离子经第二次裂解产生的二级质谱图。由此可见，在 MS-MS 分析中，第一级质谱仪的作用是母离子质量分离器，第二级质谱仪的作用则是子离子的质量分析器。MS-MS 联用法有三种扫描方式。第一种是子扫描方式，就是将由第一级质谱仪产生的代表试样中某一组分的离子(母离子)，输入的第二级质谱仪中，得到 MS-MS 子谱。这种扫描方式被广泛地用于鉴定特定的化合物。第二种是母扫描，一级质谱仪扫描时，二级质谱仪保持恒定，得到可产生子离子的所有母离子的谱图，即母谱。

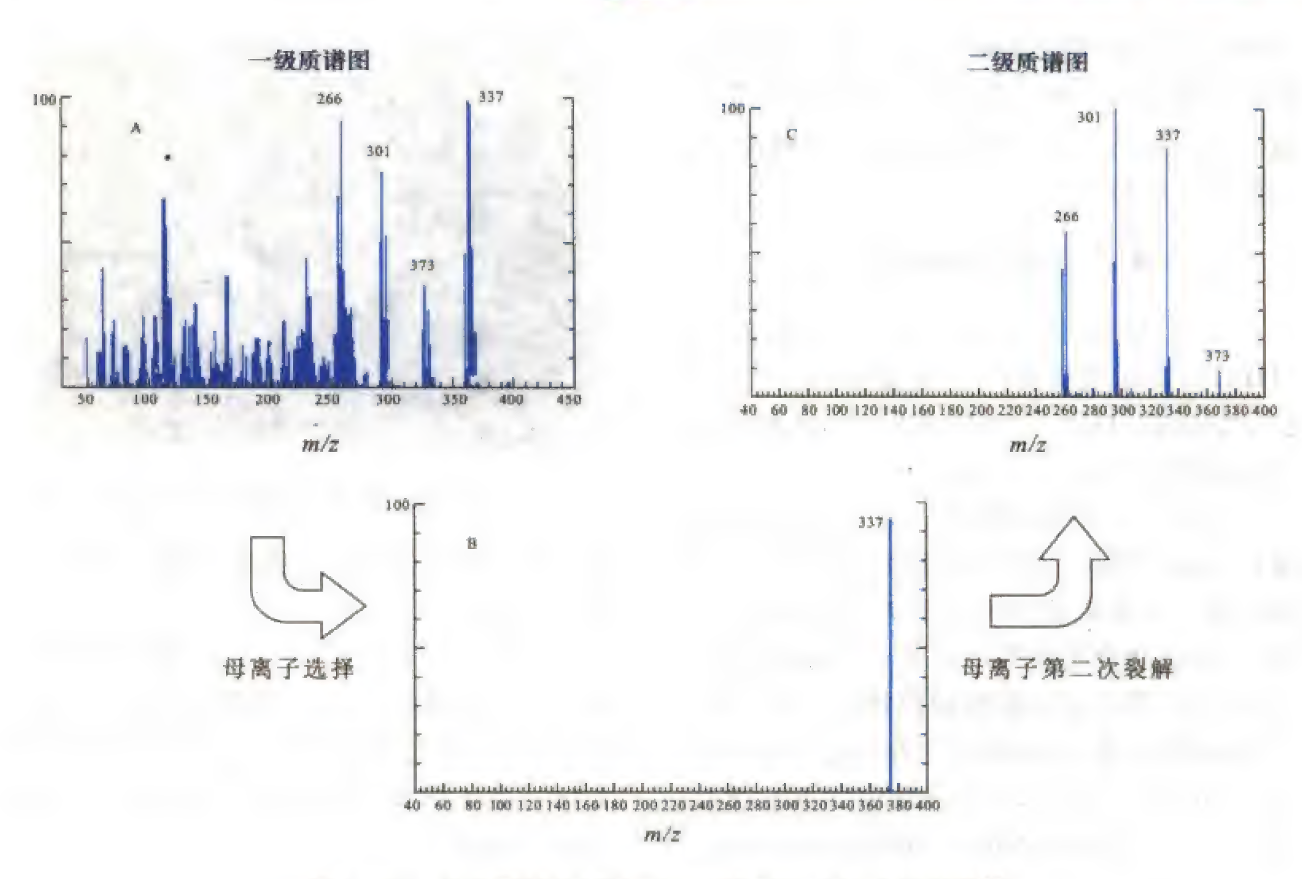


图 4-33　杀虫剂氯丹(Chlordane)的 MS-MS 分析示意图

第三种是中性丢失扫描，两个质谱仪同时扫描，可给出原始试样中所有丢失一特定中性碎片的离子的分子量，这种中性碎片往往是某种官能团的特征。

MS-MS 比 GC-MS 具有更多的优点，在 MS/MS 中，整个分析都在质谱仪中进行，不存在复杂的接口问题，且 MS/MS 不受“化学噪声”的干扰，信噪比明显改善。如图 4-34 所示，A 是一级质谱的 SIM 选择离子定量谱图，可见没有选择性，无法扣除背景的干扰；B 是二级质谱的 MS/MS 定量谱图，可见有选择性，可以有效地扣除背景干扰，取得更好的定量效果，因此可以提高检测灵敏度。在 MS/MS 分析中对样品的要求不像GC/MS

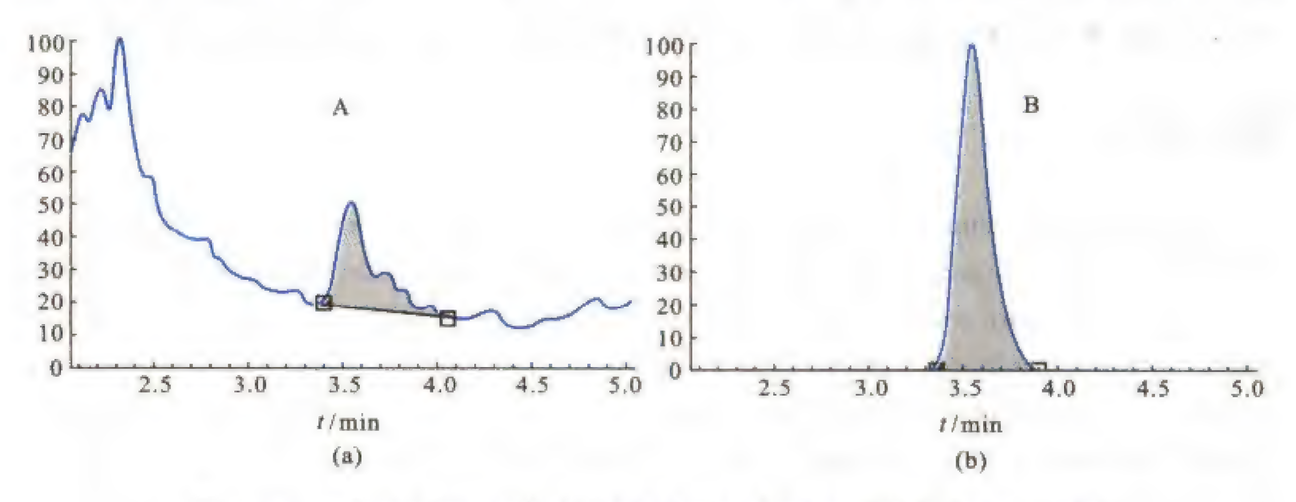


图 4-34　一级质谱 SIM 选择离子定量与二级质谱 MS/MS 定量效果比较图

分析那样对试样的溶解度、挥发性和热稳定性有严格要求。特别是MS/MS法不需要大量的样品准备工作，所需样品量大为减少，大大缩短了分析时间。

三、液相色谱/质谱联用

与气相色谱相比，高效液相色谱(HPLC)适用范围更广。近年来，由于接口技术的突破，HPLC－MS(图4－35)联用得以迅猛发展，进入了实用阶段。

与GC－MS联用相似，HPLC和MS的接口也是HPLC－MS联用的关键技术。液相色谱一般用来分离挥发性差，热不稳定性样品，这类化合物所需要的离子化方法，也与气相色谱/质谱联用系统所用技术有所不同。因此，液相色谱/质谱联用系统的接口技术较GC－MS接口复杂，目前HPLC－MS接口技术主要有直接液体导入、连续流动快原子轰击(FAB)、传送带、热喷雾、电喷雾和各种离子束方法。

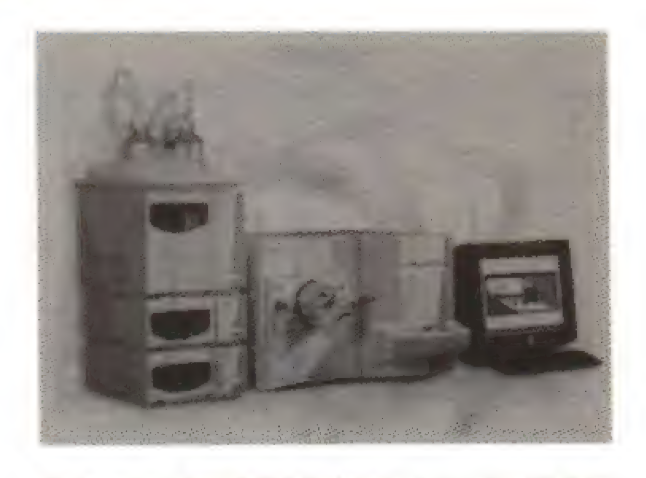


图4－35 液相色谱/质谱联用(LC－MS)仪实图

总之，目前的HPLC/MS联用技术还不如GC－MS联用技术那样可靠和简便，属于尚在发展中的技术，但其在法医毒物分析中比GC－MS法要高的检测灵敏度显示出强劲的发展趋势。

小结

随着科学技术的不断发展，分析仪器的灵敏度和稳定性得到了很大的改善和提高，现代仪器分析技术在现代法医毒物分析中扮演了越来越重要的角色。伴随着计算机技术的发展和自动化程度的提高，使得复杂的毒物分析工作变得简单，检验过程花费的时间变得更短，检验结果的可靠性得到提高，毒物检验的范围也越来越宽。许多经典的毒物检验方法正逐渐被新的仪器分析方法所替代，一些以前无法检验或难以检验的毒物现在也变得容易检验。可以讲，仪器分析是现代毒物分析中不可缺少的主要分析手段，绝大多数的毒物都能用现代仪器分析方法进行检测，其中光谱法、色谱法和色谱/质谱法是目前应用最多，使用比较成熟的方法。

Summary

With the improvement of science technology, the sensitivity and stability of instrumental analysis have been largely modified and increased, and modern instrumental analysis technology has played a more and more important role in modern forensic poison analysis. The development of computer and automation has made the complex work of poison analysis more simply, that is to say, it has made the test process faster, the result more reliable, and the range of poison inspection wider. Many classical methods of poison determination have been gradually substituted by new instrumental analysis. Some poisons, were hard to be determined or even could not be determined before, have become easy to deal with now. To some extent, in-

strumental analysis is an important and indispensable tool of modern poison determination. Most poisons could be inspected by instrumental analysis, among which, spectroscopy, chromatography, and chromatography-mass spectrometer proved to be methods of comparative maturity with the most general application.

思考题

1. 何谓光谱法?
2. 紫外光谱法定性定量的依据何在?
3. 比较几种常见光谱法如紫外可见分光光度法、红外分光光度法、荧光光度法、原子吸收光谱法。
4. 色谱法的原理是什么? 色谱法常见参数如保留时间、保留指数的意义如何?
5. 薄层色谱法的原理是什么? 定性定量的依据是什么?
6. 比较气相色谱法和高效液相色谱法。
7. 气相色谱/质谱联用技术的优越性是什么? 目前主要需要解决的技术难题是什么?

(北京市公安局法医鉴定中心　张大明)

第五章 气体毒物与挥发性毒物

要点	
概要	气体毒物可通过呼吸道进入体内，当吸入一定量的有毒气体时，人可在较短的时间内引起呼吸功能障碍、皮肤及黏膜化学灼伤甚至死亡。挥发性毒物可由多种途径引起中毒，其中乙醇和氰化物是经常在案件中遇到的物质。 含气体毒物和挥发性毒物的检材一定要密封保存和及时送检。气相色谱法因其快速和便捷常作为这两类毒物首选的分析方法。
气体毒物	气体毒物，常温常压下呈气体状态。这类毒物沸点较低，大都由吸入引起中毒。法医学实践中较为多见的气体毒物是一氧化碳和硫化氢气体。一氧化碳为无色、无臭、无刺激性气体，略轻于空气，微溶于水，易溶于氨水，易燃易爆。一氧化碳中毒者的血液呈樱红色，不易腐败，易流动。检验一氧化碳中毒通常取新鲜血液为检材，中毒死亡者可取心血。检验方法有：煮沸法、氢氧化钠法、氯化钯试验、可见光分光光度法和气相色谱法。硫化氢系无色有恶臭气味的气体，剧毒，比空气重，能溶于氨水、碱性碳酸盐溶液和水中，检验必须取新鲜的血液、肺、脑脊液、脑组织和其他脏器组织。常用的检验方法：硫化铅试验和亚甲蓝试验。
挥发性毒物	挥发性毒物是指蒸气压较高、相对分子质量小、化学结构简单且能够随水蒸气蒸馏的毒物。主要有挥发性较大的有机溶剂类如小分子的醇类、醛类、醚类、烃类、卤代烃、苯的衍生物和氰化物等。常用的分离方法有蒸馏法和微量扩散法，气相色谱法也是一种分离分析方法。
相关主题词	气体毒物　挥发性毒物　蒸气压　呼吸功能障碍　抑制剂　可见光分光光度法　气相色谱法

气体毒物可通过呼吸道进入体内，当吸入一定量的有毒气体时，人可在较短的时间内引起呼吸功能障碍、皮肤及黏膜化学灼伤甚至死亡。这类毒物中毒发生时间快、后果严重。毒性和刺激性较大的气体还有可能迅速造成群体性伤害。挥发性毒物可由多种途径引起中毒，其中乙醇和氰化物是经常在案件中遇到的物质。这两类案件发生之后，医院在对患者实施救治的同时法医或临床医生应及时采集血液（尸体应采集心脏血）和其他相关检材送检，为临床救治和案件定性提供证据和争取时间。

含气体毒物和挥发性毒物的检材一定要密封保存和及时送检。气相色谱法因其快速和便捷常作为这两类毒物首选的分析方法。

第一节　气体毒物

气体毒物(gas poison)也称之为有毒气体,常温常压下呈气体状态。这类毒物沸点较低,大都由吸入引起中毒。气体毒物种类很多,毒性各异。如化学战争中的芥子气、工业气体或工业废气中的光气、氨气、氯气、氯化氢、二氧化氮等都是毒性或刺激性很强的气体。法医学实践中较为多见的气体毒物是一氧化碳和硫化氢气体。

一、一氧化碳

(一) 理化性质和毒性

一氧化碳(carbon monoxide,CO)为无色、无臭、无刺激性气体,相对分子质量为28.01,略轻于空气,微溶于水,易溶于氨水,易燃易爆,与空气混合的爆炸极限为12.5%~74.2%。在采矿、冶金、化学工业及家用煤气、煤炉、燃气热水器和汽车尾气中均有一氧化碳存在。城市煤气中一氧化碳约占6%~30%。石油液化气的主要成分是C_1~C_4的烷烃和烯烃类。城市天然气的主要成分是甲烷(CH_4),其中也含有一定比例的煤气和少量的低碳烃。气体中的特殊臭味来自煤气和城市天然气中含有的一些杂质气体。

一氧化碳、液化气和城市天然气等气体中毒多见于意外泄漏事故和燃烧不充分时引起。在一氧化碳的他杀案件中,还时常伴有其他抑制剂(如乙醇或安眠镇静药等)类药物共同存在。

进入血液中的一氧化碳约有90%与血红蛋白中的二价铁结合,生成碳氧血红蛋白(carboxyhemoglobin,HbCO),使血红蛋白失去携氧能力,导致组织缺氧和二氧化碳潴留而产生中毒症状。通常情况下,血红蛋白(hemoglobin,Hb)与氧结合生成氧合血红蛋白(oxyhemoglobin,HbO_2)给组织供氧。当空气中有一定浓度的一氧化碳时,血液中HbCO和HbO_2之间可形成如下平衡关系(式5-1):

$$HbO_2 + CO \rightleftharpoons HbCO + O_2$$

$$K_{平衡} = \frac{[HbCO][O_2]}{[HbO_2][CO]} \qquad (5-1)$$

当空气中CO分压与O_2的分压(或摩尔分数)相等时,即$p_{CO} = p_{O_2}$或$[CO]=[O_2]$时,血液中[HbCO]是$[HbO_2]$的200~300倍。这表明一氧化碳与血红蛋白的亲和力比氧大得多。

血液中HbCO饱和度是指血液中HbCO占血红蛋白总量的百分比(式5-2)。它是判断一氧化碳中毒程度的一个重要指标。

$$HbCO(\%) = \frac{碳氧血红蛋白的量}{血红蛋白的总量} \times 100\% \qquad (5-2)$$

HbCO饱和度越高中毒越严重。正常人体内由于含铁血红蛋白的分解,每小时也可产生0.42 mL的内生性一氧化碳,使体内产生约占血红蛋白总量0.5%的HbCO。溶血性疾病患者血液中HbCO可达4%~6%。吸烟者体内HbCO可在5%~15%之间。

一氧化碳中毒死亡者血液中HbCO饱和度多为60%~80%,也有低于50%者。尤其老人、儿童、孕妇对一氧化碳较为敏感。重症冠心病、严重慢性肺疾病或脑动脉硬化者对一氧化碳耐受力低,HbCO饱和度在20%时也可引起中毒或死亡。当一氧化碳的浓度以不同比例存在于空气中时,人因吸入一氧化碳而产生的中毒症状与其血液中HbCO饱和度之间的关系见表5-1。

一氧化碳中毒者的血液呈樱红色,不易腐败,易流动。检验一氧化碳中毒通常取新鲜血液为检材,中毒死亡者可取心血。检血盛放于容积较小的密闭容器中,让血液充满

表 5－1 一氧化碳在空气中的浓度、吸入时间与中毒的关系

空气中 CO 浓度/%	吸入时间/min	血中 HbCO 饱和度/%	中毒表现
0.02	120～180	10～20	轻微前额部头痛
0.04	60～120	20～30	前额头痛、恶心
	150～210		枕部头痛
0.08	<45	30～40	头痛、恶心、呕吐、眩晕乏力
	120		虚脱、神志不清
0.16	<20	40～50	头痛、眩晕、恶心
	120		虚脱、神志不清或死亡
0.32	5～10	50～60	头痛、眩晕、呼吸脉搏加速、昏迷
	<30		可能死亡
0.64	1～2	60～70	除上述症状外，呼吸脉搏变弱
	10～15		死亡
1.28	1～3	75～80	立即发生中毒症状昏迷而死亡

容器，尽快检验。一氧化碳中毒患者在脱离中毒现场并移至新鲜空气或吸氧后，HbCO 饱和度逐步降低。一般认为在8 h以后即难以检出。

（二）检验方法

检验血液中的一氧化碳可采取两种途径，即直接检测血中的 HbCO，或用化学试剂促使 HbCO 解离，释放出 CO 后再对 CO 进行检验。以下几种定性分析方法各有不同的适用范围，可结合使用。

1. 煮沸法　分别取检血和正常血于试管中，同时在沸水浴中加热 2～3 min 对照观察。含 HbCO 的血液凝固后呈砖红色，正常血则变成灰褐色。当血液中 HbCO 饱和度达 30% 以上时可顺利检出。此方法是判断一氧化碳中毒最快速的定性分析方法。

2. 氢氧化钠法　检血与正常血均先用蒸馏水稀释 20 倍，再与等体积 30% 的氢氧化钠溶液混合。一氧化碳血在液面上形成红色絮状物，正常血则为绿褐色。血液中 HbCO饱和度大于 20%时，红色可维持1 min 以上。此方法在临床救治上常用来检验血液中是否含有超量的一氧化碳。

3. 氯化钯试验　一氧化碳能将氯化钯溶液中钯离子还原成为金属钯，形成一层具有黑色金属光泽的钯镜薄膜漂浮于液体表面。血液中 HbCO 饱和度在 10%以上即可检出。阴性结果可以排除检血为一氧化碳血。其反应式为：

$$PdCl_2 + CO + H_2O \longrightarrow Pd\downarrow + 2HCl + CO_2$$

反应在 Conway 扩散槽中进行。内槽加入吸收剂 5 mmol/L $PdCl_2$ 0.5 mL；外槽一侧加入释放剂 10% H_2SO_4 0.5 mL 以促进 HbCO 的解离；由样品加入口在外槽另一侧加入检血 0.5～2 mL，密闭装置后，让检血与释放剂充分混合，室温下放置 0.5～2 h。内槽液面上有黑色钯镜生成示有一氧化碳。注意腐败检材产生的还原性物质有干扰，可在加入稀酸的同时一并加入适量的醋酸铅溶液以除去硫化氢的干扰。

4. 可见光分光光度法　一氧化碳中毒血中的血红蛋白种类主要有三种形式：Hb、HbO_2、HbCO。三种形式的血红蛋白在可见光区都有两个吸收带，420 nm 附近是强吸收带，HbCO 的吸收峰最强，最大吸收波长为 419 nm。三种血红蛋白的吸收峰形状相似，只是峰位与强度不同。第二吸收带强度是第

一吸收带的十分之一，最大吸收波长在500～600 nm 区域，见图 5-1。

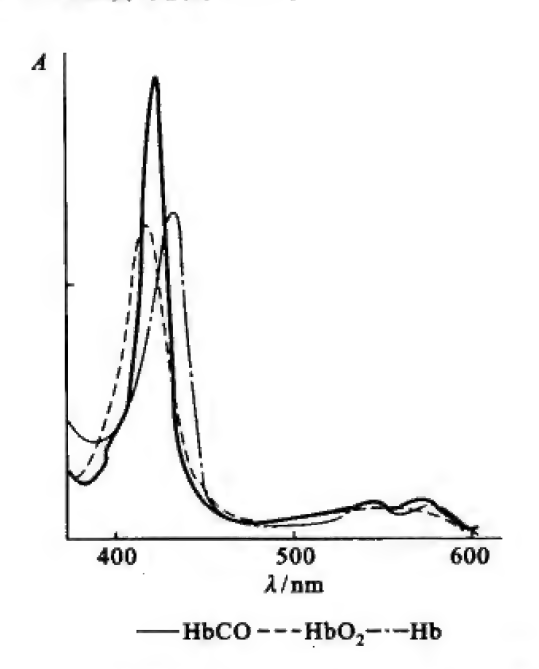


图 5-1 三种血红蛋白在可见光区的吸收光谱图

在 500～600 nm 的波长范围内，HbCO和 HbO_2 都是双吸收峰，HbO_2 的两个最大吸收峰波长分别为 540 nm 和 576 nm；HbCO 的两个最大吸收波长分别为 538 nm 和 568 nm。Hb 是单吸收峰，最大吸收波长为 555 nm 见图 5-2。

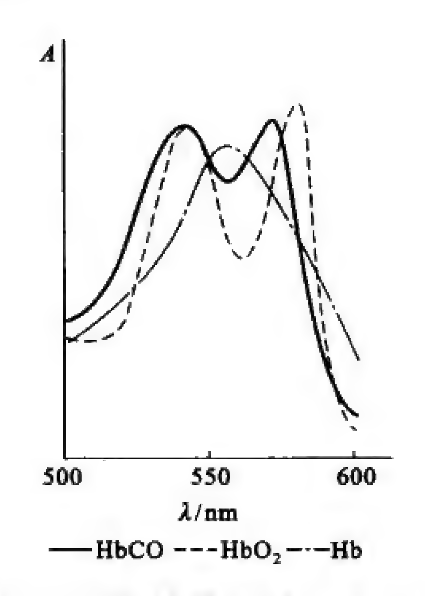


图 5-2 三种血红蛋白在 500～600 nm 的吸收光谱图

高铁血红蛋白(methemoglobin，MetHb)在此区域内也有吸收，但含量较低且为单吸收峰。检血用 0.5% Na_2CO_3 稀释 200 倍并加入 0.1%连二亚硫酸钠($Na_2S_2O_4$)少许，则 HbO_2 和 MetHb 都被还原成为 Hb，而 HbCO 则不被还原。测定还原后溶液的吸收光谱时，如检血中不含有 HbCO，原双峰吸收光谱应变为 Hb 的单峰吸收光谱；如检血中含有 HbCO，则吸收光谱的形状出现 HbCO 的特征吸收光谱，且吸收光谱随 HbCO 的含量不同而变化。HbCO 饱和度越大，吸收光谱的形状越趋近于 HbCO 的双峰吸收光谱。反之，则越接近于 Hb 的单峰吸收光谱。由图 5-3 可见，就是利用吸收光谱的形状定性检测血液中的 HbCO，同时估算出血液中 HbCO 的饱和度。

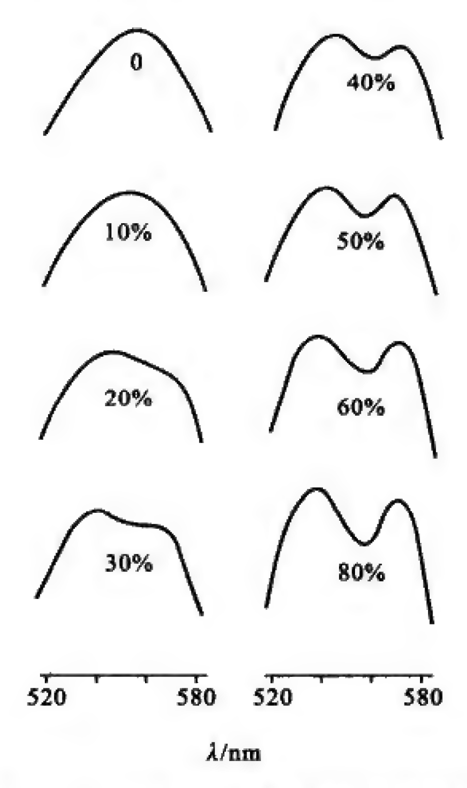


图 5-3 不同 HbCO 饱和度的血液经连二亚硫酸钠还原后所呈现的吸收光谱图

测定检血中 HbCO 的饱和度，是鉴定一氧化碳中毒案件的必经过程。在各类定量分析的方法中，可见光分光光度法是较实用的一种。可用直接测定的方法在第一吸收带进

行测定，也可采用将 HbO_2 还原成 Hb 后，利用第二吸收带吸收光谱的特点来进行测定。

（1）直接测定法　血液中 HbCO 在第一吸收带的最大吸收波长是 419 nm，在此处 HbO_2 也有吸收，可将检血（测定时不要求准确取样）稀释 100～200 倍后分成 3 份。一份通入足量空气使 HbCO 全部转化成 HbO_2，得到 HbCO 饱和度为 0 的血样，在 419 nm 处测得吸光度 A_0；一份通入 CO 制备使饱和度为 100% 的血样，在相同条件下测得吸光度 A_{100}；另一份直接测定吸光度 A_X；可按式 5－3 计算检血中 HbCO 的饱和度。该方法 HbCO 低于 40% 时误差较大。

$$HbCO(\%)=\frac{A_X-A_0}{A_{100}-A_0}\times 100\% \qquad (5-3)$$

（2）双波长吸光度比值法（还原法）　一氧化碳中毒血经 $Na_2S_2O_4$ 还原后血中只含有 HbCO 和 Hb 两种组分，其吸收光谱是 HbCO 和 Hb 的加和。在第二吸收带 HbCO 的最大吸收波长之一是 538 nm；Hb 的最大吸收波长是 555 nm。随着血中 HbCO 饱和度的增大，555 nm 处的吸光度减小，而 538 nm 处的吸光度增大。538 nm 与 555 nm 处的吸光度之比 A_{538}/A_{555} 也随着 HbCO 饱和度的增高而增大，且有近似直线的关系，故可用式 5－4 计算血液中 HbCO 的饱和度。

$$HbCO(\%)=\frac{(A_{538}/A_{555})_X-(A_{538}/A_{555})_0}{(A_{538}/A_{555})_{100}-(A_{538}/A_{555})_0}\times 100\% \qquad (5-4)$$

式中括号外的下角标 *X* 表示未知 HbCO 饱和度的待测血样；0 与 100 分别表示 HbCO 饱和度为 0% 和 100% 的血样。操作时先将正常非吸烟者的血样用 0.1% Na_2CO_3 稀释 200 倍，加入少许 0.1% $Na_2S_2O_4$，放置 15 min 使 HbO_2 还原。然后分别在 538 nm 与 555 nm 处测其吸光度，计算 $(A_{538}/A_{555})_0$；再将此溶液通入 CO 气体 3 min 以上，使血液中的 Hb 全部转化为 HbCO。在相同两波长处测定吸光度，计算 $(A_{538}/A_{555})_{100}$；检血也按上述方法稀释并加入还原剂后测其 $(A_{538}/A_{555})_X$；将所得三个比值代入式 5－4 计算检血中 HbCO 饱和度。

此方法对 HbCO 饱和度较高的检血重现性较好，但不适用于测定 HbCO 饱和度较低的检血。对检血的稀释不要求很精确。HbCO 饱和度为 0% 和 100% 的比值，一次测定后只要条件不变，不必每次都测。通常 $(A_{538}/A_{555})_0$ 的比值为 0.775；$(A_{538}/A_{555})_{100}$ 的比值为 1.233。

（3）双波长分光光度法　在 Hb 和 HbCO 二组分体系中，Hb 和 HbCO 在 500～600 nm 内都有吸收。可以利用等吸收双波长示差法消除 Hb 的吸收。选择两个波长使 Hb 在所选两个波长处的吸光度相等，同时又使 HbCO 在所选两波长处的吸光度有较大差异。这样测得的两个波长处的吸光度的差 ΔA 就只与 HbCO 的含量有关，且与其含量成正比。检测时先将血液稀释并用还原剂将检血中的 HbO_2 和 MetHb 全部转变成为 Hb 后测定 ΔA_X，然后再将其转化成 HbCO，测定 HbCO 饱和血样的 ΔA_{100}，由公式 5－5 求得检血中 HbCO 的饱和度。

$$HbCO(\%)=\frac{\Delta A_X}{\Delta A_{100}}\times 100\% \qquad (5-5)$$

在 500～600 nm 范围内，Hb 有无数对等吸收波长（图 5－2）。所选的两个波长应尽可能使 HbCO 的吸光度具有较大的差值。为此，可选择 530 nm 和 584 nm 附近的一个波长作为测定波长。Hb 的等吸收波长需通过实验选定。将非吸烟者的血用 0.5% Na_2CO_3 稀释 200 倍并加入适量 0.1% $Na_2S_2O_4$ 后放置 15 min，使 HbO_2 和 MetHb 都被还原为 Hb。先测定 530 nm 处的吸光度，再测定 584 nm 附近各波长的吸光度，选

出其中与 530 nm 处的吸光度相等的波长作为与 530 nm 配对的等吸收波长用于测定。检血按上述方法稀释并还原后，在选定的两波长处测定吸光度并计算 ΔA_X。然后向待测血中通入 CO 气体至饱和，使 Hb 全部转变成 HbCO，再测定两波长处吸光度差值 ΔA_{100}，所得数值代入式 5－5 即可求出检血中 HbCO 的饱和度。

检血不需要准确稀释。只要仪器及操作条件不发生变化，等吸收波长确定后，不必每次重复测定。此方法对分光光度计的波长精度要求较高，波长的误差对测定结果影响较大。

5. 气相色谱法　顶空气相色谱/热导检测器法是较成熟的一种检测技术。用 60～80 目 5Å 的分子筛填充柱。吸取检血 0.5 mL，加 25%乳酸释放剂 0.5 mL 混匀，做顶空气相色谱分析，记录检血中一氧化碳的峰面积 A_X，再将检血通入一氧化碳气体至饱和，按同样的方法测饱和血中一氧化碳的峰面积 A_{100}，由 A_X/A_{100} 计算血中 HbCO 的饱和度。此方法操作便捷，结果准确。

二、硫化氢

（一）理化性质和毒性

硫化氢（hydrogen sulfide，H_2S）系无色有恶臭气味的气体，剧毒，比空气重，能溶于氨、碱性碳酸盐溶液和水中。空气中含有 0.02%的硫化氢时，吸入 5～8 min 即可引起中毒。含 0.1% ～ 0.15%时，更短时间内即可死亡。硫化氢多存在于通风差的地下设施、工业废气、污水沟和动植物的腐败组织中。由于硫化氢气体具有恶臭味，自杀和他杀案件较少发生，多见于意外事故。

（二）检验方法

硫化氢检验必须取新鲜的血液、肺、脑脊液、脑组织和其他脏器组织。若硫化氢进入人体较久或吸入硫化氢的量较大，尿液也可作为检材。腐败组织本身可产生一定量的硫化氢，所以含硫化氢的检材更应注意防腐和及时、合理送检。

硫化氢的水溶液呈弱酸性，电离度很小，检验硫化氢是将含硫化氢或其他可溶性硫化物的检材加酸使其逸出，再吸收或直接检验逸出的硫化氢气体。通常用以下化学法检验硫化氢。

1. 硫化铅试验　硫化氢可与许多金属离子生成有色难溶性硫化物。与铅离子反应生成黑色硫化铅。铅试剂常制备成醋酸铅棉或溶液，也可用湿润的醋酸铅试纸检测。脏器等固体检材磨碎或匀浆后放入锥形瓶中，加稀硫酸后立即加盖中间插有玻璃管的胶塞（玻璃管中事先放好醋酸铅棉或试纸），温水浴加热，检材中若含有硫化氢，醋酸铅棉或试纸生成棕色或黑色的硫化铅。

2. 亚甲蓝试验　对氨基二甲基苯胺在三氯化铁存在下可与硫化氢反应生成亚甲蓝。

$$(H_3C)_2N{-}C_6H_4{-}NH_2 + H_2S \xrightarrow{FeCl_3} \left[(H_3C)_2N{-}C_{12}H_6NS^{+}{-}N(CH_3)_2\right]\cdot Cl^-$$

用碱液吸收检材中释放出的硫化氢气体，加入数粒对氨基二甲基苯胺晶体，加稀盐酸使呈酸性，再加 0.3% $FeCl_3$ 数滴，如有硫化氢，溶液逐渐呈深蓝色。此反应检出的浓度限是 0.01 mg/L。尿中的硫化氢可直接取尿液作上述检验。

第二节　挥发性毒物

一、概述

挥发性毒物（volatile poison）是指蒸气压

较高、相对分子质量小、化学结构简单，可利用其较易挥发的特点从检材中分离出来的毒物。常见的挥发性毒物主要有小分子的醇类、醛类、醚类、烃类、卤代烃、苯以及氰化物等。

挥发性毒物可出现在刑事案件中，如用醚类进行麻醉抢劫。在意外事故中也会遇见，而这些意外事故多发生在需要接触这类毒物的行业中。如事例5-1。而甲醇等醇类物质还常见于制造贩卖以工业乙醇滥造的酒类或饮料而造成误服者中毒的事（案）件中。

事例5-1：

1994年1月21日，上海某船厂工人刘某使用842氯化橡胶防锈漆对总厂12吨机房进行第二度油漆。工作3 h后，感到头昏、恶心，有昏厥。诊断为急性二甲苯中毒。油漆的溶剂和稀释剂中，通常含有苯、甲苯、二甲苯等有机溶剂，中毒后引起人体的神经系统和血液系统的症状。本次中毒事故发生原因，主要是机房内自然通风不良，又没有通风排毒设备，大量甲苯、二甲苯蒸气积聚，工人违反安全操作规程，未使用个人防护用具。

对于疑为挥发性毒物中毒的案件，采取检材时应迅速，及时密封；装盛检材容器的容积应该尽量小，必要时可在检材上面添加液体石蜡或者预先将容器冷却以防止其挥散。检材采取以后应及时送检，对因条件限制不能及时送检的材料应在低温甚至冰冻条件下保存。在采取检材的过程中法医工作者还应该注意自身的保护，如佩戴口罩、防毒面具等。

由于挥发性毒物多是通过吸入的方法进入人体，故对于疑为挥发性毒物中毒致死者，许多情况下，取肺组织作为检材，另外血液也是常用检材。

挥发性毒物的分离方法所依据的是气-液平衡原理，常用的检材处理手段已经在第二章进行了详细的描述。值得注意的是，由于挥发性毒物的特性，故在处理过程中应注意防止挥发损耗，如注意容器的密封。对于挥发性特别大的毒物经蒸馏后直接以吸收剂收集或在馏液收集处采取适当的降温方法。

在对挥发性毒物进行蒸馏处理时，根据毒物挥发性不同，收集的馏液也不完全相同。如氢氰酸、甲醇、乙醇、乙醚、氯仿等在初馏液中浓度较大，可取初馏液进行检验，但应保证蒸馏尽可能完全；而苯胺、苯酚和硝基苯等，因在馏液中浓度常常很低，在较长时间内变化不大，故应多收集一些馏液。对于一些腐败检材的蒸馏处理，要注意控制加热蒸馏的温度不能过高等条件，以免检材溶液冲出蒸馏瓶。

针对挥发性毒物分子小，沸点低的特点，该类毒物的检测不仅可以根据不同物质的化学性质选用适当的化学法，大多可选用适用于具挥发性物质的气相色谱法或者GC-MS进行准确的定性和定量。前面第二章所介绍的顶空气相色谱法可以直接分析检材，适用于挥发性较大的毒物。

在应用气相色谱法检测挥发性毒物时，如果检材经过处理步骤，应注意蒸馏或萃取分离是否完全；如果用顶空气相色谱法，应该严格掌握温度、压力、取样量等有关条件。通常需要用空白模拟检材和加样模拟检材进行验证，掌握操作全过程的各种条件，避免产生误差。

二、挥发性毒物的检验

（一）氢氰酸与含氰化合物

氰化物是一类高毒化合物，有无机氰化物和有机氰化物两大类，无机氰化物接触机会较多，毒性最大的有氢氰酸（prussic acid，HCN）、氰化钾（potassium cyanide，KCN）和氰化钠（sodium cyanide，NaCN）。还有一些含氰基的

化合物，如铁氰化钾（$K_3[Fe(CN)_6]$）、亚铁氰化钾（$K_4[Fe(CN)_6]$）和硫氰酸钾（KSCN）等，这类物质在一定条件下可分解释放出氰酸根离子（CN^-）而产生毒性。有机氰化物有丙烯腈和一些果核中所含的苦杏仁苷、木薯毒苷等。

1. 氢氰酸与氰化物　氰化氢是无色气体，其水溶液是氢氰酸，两者都有苦杏仁的特殊气味。纯的氢氰酸是无色液体。沸点25.7℃，能溶于水、乙醇、乙醚等溶剂。氢氰酸的酸性很弱（$K_a=6.2\times10^{-10}$），极易挥发出氰化氢气体。氰化钾和氰化钠均为白色结晶或粉末，常制成球状或块状。氰化物在空气中极易潮解，易溶于水，水溶液呈强碱性。若暴露在空气中可与二氧化碳作用形成酸性碳酸盐，毒性明显降低。

氰化钠和氰化钾广泛应用于电镀、冶金、金属制品等行业；也用于狩猎、灭鼠和熏杀害虫等，市面上相对容易得到。氰化物可因使用和操作不慎而引起中毒，自杀或他杀案件多见于氰化钾和氰化钠。

氢氰酸、氰化钾和氰化钠的毒性极强。氢氰酸成人口服致死量为0.05～0.1 g，空气中氰化氢的浓度达到200～500 mg/m³时可使人立即死亡；氰化钾和氰化钠成人经口服致死量为0.05～0.25 g，苦杏仁成人服40～60粒，儿童服10～20粒可引起中毒或死亡。氰化物中毒血浓度约为0.5 μg/mL，致死血浓度在1 μg/mL以上。正常人因吸烟或摄入含氰苷的食物等，其血液中有时也会含有痕量的氰酸根离子，浓度一般不超过1 ng/mL。

氰化物可经呼吸道、消化道及皮肤进入人体，对中枢神经产生刺激和麻痹作用，使血液中的氧化还原作用丧失，导致瞬间死亡。氰化物中毒死亡者的尸体呈鲜红色尸斑，血液呈鲜红色且不易凝结，解剖时有时可以嗅到氢氰酸的苦杏仁味。

含氰化物的检材可取现场的可疑物品、剩余食物、呕吐物和胃内容物，其次为血液、肝、脾、肺、脑等。疑似吸入性中毒者应取血液。对于取材较晚、严重腐败或存放较长时间的检材，以防氰化物因生成氢氰酸挥发而不能检出。

（1）直接检验　普鲁士蓝法（Prussian blue response）是检验氰化物的一种有效的分析方法。加酸使氰化物转变为氢氰酸从检材中逸出，CN^- 分别与 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 反应生成普鲁士蓝。反应过程如下：

$$CN^- + H^+ \longrightarrow HCN\uparrow$$

$$6HCN + Fe^{2+} + 6OH^- \longrightarrow Fe(CN)_6^{4-} + 6H_2O$$

$$4Fe^{3+} + 3Fe(CN)_6^{4-} \longrightarrow Fe_4[Fe(CN)_6]_3\text{（普鲁士蓝）}$$

快速法操作：直接取磨碎的检材于锥形瓶内，加适量水使呈粥状，加酒石酸使检材呈酸性，加盖插有玻璃管的胶塞，在玻璃管上端盖一张滤纸，在滤纸上滴加1滴10% NaOH溶液和新配制的20% $FeSO_4$ 溶液，加热后可见锥形瓶内有蒸气上冒，检材中氢氰酸也一同随蒸气从检材中逸出，接触到NaOH－$FeSO_4$ 试纸，数分钟后取下试纸，滴加10% H_2SO_4 使之呈酸性。如检材中含有氰化物，滤纸上呈现蓝色斑。该反应是专属反应，检出限为10 μg。若检材腐败，应在玻璃管中加入适量醋酸铅棉以除去硫化氢的干扰。

（2）蒸馏后检验　检材也可经蒸馏分离后再进行检测。氢氰酸挥发性强，可在较短的时间内蒸出，蒸馏液用0.1 mol/L NaOH溶液吸收后进行如下反应。

① Rhodan反应　氰化物与过硫化铵反应生成硫氰酸盐，硫氰酸盐再与三价铁反应生成血红色的硫氰酸铁。

$$CN^- + (NH_4)_2S_2 \longrightarrow SCN^- + (NH_4)_2S$$

$$3SCN^- + Fe^{3+} \longrightarrow Fe(SCN)_3$$

取碱性馏液1～2 mL，加少量过硫酸铵溶液，在水浴上蒸干，残渣用少量水溶解，加稀盐酸酸化，将析出的硫过滤除去，滤液滴加三氯化铁溶液，若有氰化物，溶液呈现血红

色。检测限为 1∶400 000。

② Prussian blue 反应　取碱性馏液 1～2 mL 于试管中，滴加数滴新配制的 20% $FeSO_4$ 溶液和 1 滴 20% $FeCl_3$ 溶液，加稀硫酸酸化，若含有氰化物，会出现蓝色沉淀。氰化物含量低时，会在试管底部处逐渐呈现蓝色。检测限为 1∶50 000。

2. 氰络盐　在强酸性条件下加热或煮沸氰络盐能分解产生氢氰酸。检验氰络盐可直接将检材用适量水浸泡，离心取上清液滴加数滴 20% $FeCl_3$ 溶液，若有亚铁氰化物，即可生成普鲁士蓝；若有硫氰酸盐，则生成血红色的硫氰酸铁。检验铁氰化物时可于水浸液中加入新配制的 20% $FeSO_4$ 溶液，硫酸亚铁能与铁氰化物生成深蓝色的滕氏蓝沉淀，相对迟缓。

3. 含氰基化合物　在含氰基的有机化合物中，脂链烃上的氰基在体内分解代谢时可产生氢氰酸，这类有机化合物主要有脂肪族的含氰基化合物及植物中的氰苷类。

(1) 丙烯腈　丙烯腈（acrylonitrile，$CH_2=CHCN$）是无色、有苦杏仁味、易燃、易挥发的液体。丙烯腈的毒性低于氰化物，中毒症状与氰化物相似，但作用较轻，发作也相对迟缓。

丙烯腈的检验可取血液等相关检材，取蒸馏液或用顶空气相色谱法直接检测。在磷酸盐缓冲液中（pH 6.8），用氯胺 T 为氧化剂，在光照的条件下使丙烯腈分解产生氢氰酸后再对氰根进行检测。

(2) 含氰苷类　含氰苷（cyanogentic glycoside）又称氰醇苷，是含氰醇基的苷元和木薯中的木薯毒苷（manihotoxin），食用与糖缩合而成的有机化合物。如存在于杏、桃、李等的果核中的苦杏仁苷（amygdalin），一定量的这种物质可引起中毒。一些苦杏仁中苦杏仁苷含量高达 4.5%，相当于含氢氰酸 0.28%。

氰苷可在体内酶的作用下或在强酸中加热煮沸水解生成糖和氰苷元两部分，氰苷元再水解生成氢氰酸而产生毒性。这就是过量摄入含氰苷类食物会引起氰化物中毒的道理。

$$C_6H_5-\underset{\displaystyle OC_{12}H_{21}O_{10}}{\underset{|}{CH}}-CN + H_2O \longrightarrow C_6H_5-CHO + HCN + C_{12}H_{22}O_{11}$$

苦杏仁苷　　苯甲醛　　龙胆双糖

$$CH_3-\overset{\displaystyle CH_3}{\overset{|}{\underset{\displaystyle OC_6H_{11}O_5}{\underset{|}{C}}}}-CN + H_2O \longrightarrow CH_3COCH_3 + HCN + C_6H_{12}O_6$$

木薯毒苷　　丙酮　　D-葡萄糖

苦杏仁等引起的中毒，有时可从胃内容物中找到破碎的果核。毒物化验可以检出氢氰酸与苯甲醛。检验果核等植物检材时，可让其在试管中与稀硫酸共同煮沸水解，同时在试管口用碱性硫酸亚铁试纸作普鲁士蓝快速检验。也可经蒸馏分离后，用有机溶剂提取蒸馏液中的苯甲醛。利用苯甲醛和苯甲酸在紫外光区都有吸收的性质作紫外分光光度法检验或用气相色谱法检验。

(二) 乙醇与甲醇

1. 乙醇

(1) 理化性质与毒性　乙醇（ethanol，CH_3CH_2OH）或酒精，无色液体、易挥发、易燃。沸点 78.4℃，相对密度 0.789～0.791，能与水、醚、酮、氯仿等以任意比例混溶。

乙醇是各种酒类饮料的主要成分。不

同种类的酒，其乙醇含量也各异。啤酒中含乙醇2%～6%；葡萄酒等果酒中含乙醇为10%～30%；各种白酒中的乙醇含量为35%～65%。大量饮用高浓度的酒，会造成急性酒精中毒，甚至死亡，对社会也会产生一系列的危害。酒后驾车已成为交通事故中的重要原因；借酒投毒实施犯罪的案件屡见不鲜。若在检验中检出了乙醇，有时不能立即断定只是乙醇中毒，视案情应考虑是否有其他毒物同时存在。一些与乙醇同时使用的毒物多见于呼吸抑制剂，如一氧化碳、安眠药类、阿片类和中枢兴奋剂类等。

急性乙醇中毒主要是乙醇对中枢神经系统的抑制。判断乙醇中毒的程度通常以血液中乙醇浓度作为标准。一般情况下，血液中乙醇浓度在 50 mg/100 mL 以下时无明显影响；达 100 mg/100 mL 以上时可出现明显的中毒症状；达 400 mg/100 mL～500 mg/100 mL 可导致呼吸抑制等症状而引起死亡。酒精中毒剂量因人及习惯不同而差异很大，有血液中乙醇浓度仅为 250 mg/100 mL 致死的案例，也有高达 600 mg/mL 仍存活的报道。

乙醇自饮后 2～5 min 开始进入血液，30～90 min 血液浓度达最高峰，6～13 h 各脏器含量最高。有报道乙醇在健康人血液中的正常消除速率为每小时 10.75 mg/100 mL，如一次饮入 60 度白酒 100 mL，消除约需 6 h。

现将血中乙醇含量与其相应症状和酒后交通事故间的关系列于表 5-2 中供参考。

表 5-2　血中乙醇浓度与症状、酩酊度及肇事的关系

乙醇浓度/(mg/100 mL)	症　状	酩酊度	肇事可能性
50	精神愉快，飘然感	无影响	有可能
100	兴奋、脸红、语无伦次，笑怒无常	无明显影响	增加
150	激动，吵闹	高度影响	很容易
200	动作不协调，意识紊乱，舌重口吃	酩酊	一定发生
300	麻醉状态，进入昏迷	重度酩酊	一定发生
400	昏迷，呼吸有鼾音，体温下降		
500	深度昏迷，死亡		

(2) 检验方法　检验乙醇可取血、尿、呼出的气体和胃内容物等为检材。对于取自尸体的血液，应考虑是否有微生物污染后产生乙醇的可能。尸体在产生乙醇的同时也有正丙醇产生。当血中检出正丙醇时，应考虑到微生物的污染。检材采取后应密闭、低温保存，尽快检验。

① Lieben 碘仿反应　取 1～2 mL 蒸馏液，加稀碱液使呈碱性，滴加碘试剂使之呈现淡黄色，于 50℃ 水浴上加热。如含乙醇，可生成黄色碘仿沉淀。经冷却、放置后弃去上清液，将沉淀置于载玻片上，镜检可观察到碘仿结晶(图 5-4)。检出浓度限为 1∶1 000。丙酮、乙醛及含 CH_3CO—基团的化合物都能发生此反应，但甲醇无此反应，可以与之区别。碘仿反应过程如下：

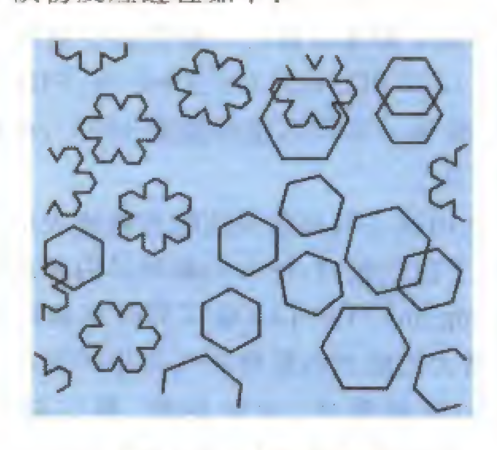


图 5-4　碘仿结晶图

$I_2 + 2KOH \longrightarrow KI + KIO + H_2O$
$CH_3CH_2OH + KIO \longrightarrow CH_3CHO + H_2O + KI$
$CH_3CHO + 3KIO \longrightarrow CHI_3\downarrow + HCOOK + 2KOH$
总反应
$CH_3CH_2OH + I_2 + KOH \longrightarrow CHI_3\downarrow + HCOOK + KI + H_2O$

② Widmark 法(微量扩散法)　反应在微量扩散槽中进行。液体检材中加适量饱和碳酸钠溶液作为乙醇释放剂,促使检材中的乙醇挥发。用重铬酸钾-硫酸溶液吸收气相中的乙醇蒸气,气相中的乙醇蒸气被吸收剂吸收后氧化成乙酸。当检材中的乙醇全部逸出并被氧化时,吸收剂自身被还原成三价铬而使溶液呈绿色,通过观察吸收剂颜色的改变可判定检材中是否有乙醇存在。凡检材中能被 $K_2Cr_2O_7 - H_2SO_4$ 氧化的挥发性组分都会产生干扰,所以该反应只作为乙醇的筛选实验。乙醇与重铬酸钾的氧化-还原反应如下:

$$3C_2H_5OH + 2Cr_2O_7^{2-} + 16H^+ \longrightarrow 3CH_3COOH + 4Cr^{3+} + 11H_2O$$

③ 气相色谱法　用气相色谱法检测甲醇和乙醇是非常快速和准确的分析方法,操作方式可针对分析要求的不同选择外标或内标法对血清中的乙醇直接测定,或经蒸馏分离后对蒸馏液再进行检测,也可选用顶空气相色谱法直接对血、尿中的乙醇定性、定量检测。

色谱条件可选择 Chromosorb 101 或 102 为固定相涂以聚乙二醇类固定液的色谱柱,如 10% PEG400/102、DNP 等,FID 检测器,柱温 80～100℃,进样温度 180℃,检测器温度 180℃。

选用顶空气相色谱法时可精确吸取检血 1 mL 于顶空瓶内,加入内标物异丙醇或叔丁醇(2 mg/mL)100 μL(也可同时加硫酸铵溶液以增大乙醇和内标物在气相中的浓度),立刻盖上硅橡胶垫,加封铝帽,混匀样品后 60℃水浴加热 10 min。用 1 mL 注射器吸取 0.4 mL 液面上的气体注入气相色谱,测出乙醇的峰面积 A_X(或峰高 h_X)和内标物的峰面积 A_{IX}(或峰高 h_{IX})。再取一定量空白模拟检材,加入已知量的乙醇,按同样的方法加入内标物并检测,测出标准乙醇峰面积 A_S(或峰高 h_S)和标准内标物峰面积 A_{IS}(或峰高 h_{IS})。根据模拟检材中加入标准乙醇的相对含量 C_S 和以上所测得的数据可由式 5-6 求得检材中乙醇的相对含量。

$$\text{检材中乙醇的相对含量} = \frac{A_X/A_{IX}}{A_S/A_{IS}} \times C_S \quad (5-6)$$

直接取血液测定乙醇时,可将检血用水稀释 20 倍,滴加三氯醋酸沉淀蛋白质,高速离心后取上清液定容,吸取一定体积进样检测。乙醇含量与色谱峰高或峰面积间的比值关系,需用模拟检材加入已知含量标准乙醇的系列溶液在相同条件测定获得。选用内标法或外标法测定和计算。

2. 甲醇

(1) 理化性质与毒性　甲醇(methanol, CH_3OH)系无色、透明的挥发性液体,沸点 64.5℃,密度 0.791～0.793。能与水、乙醇、乙醚、氯仿、丙酮等以任意比例混溶。工业乙醇中甲醇的含量较高,不能饮用以及作为食物原料使用。甲醇中毒案件多发生于误饮了以工业乙醇滥造的酒类或饮料,严重者可导致死亡。

甲醇对视神经有较强的毒害作用,可导致视神经萎缩、视力减退甚至失明。饮用甲醇 10～20 mL 可导致失明,饮用甲醇 30～100 mL 可导致呼吸衰竭和死亡。甲醇进入人体后吸收较快,但代谢速度较慢,毒性发作较迟缓。甲醇在体内被氧化成甲醛和甲酸,也可局部作用于各器官组织,在甲醇中毒者的尿液中可检出甲醇和甲酸。甲醇的中毒血浓度为 0.2 mg/mL。

(2) 检验方法　检验甲醇可取怀疑含有甲醇的酒或饮料直接检验,还可取血、尿、胃



内容物等经蒸馏分离后取蒸馏液检验，或不经蒸馏分离采用顶空气相色谱法进行检验。用化学法可作醇的类别检验或经氧化后对氧化产物甲醛进行检验。

① 醇的类别反应　甲醇也可以进行Vitali反应，检测限为 1∶700，还可以与苯甲酰氯反应生成具有香气的安息香酸甲酯。取蒸馏液 2 mL，加数滴苯甲酰氯溶液，滴加过量的 10% NaOH 溶液，振摇致苯甲酰氯气味消失为止。如含甲醇可嗅到安息香酸甲酯的芳香气味。此反应还可用来区分醇与丙酮。

② 氧化成甲醛后检验　甲醇可被弱氧化剂(CuO)氧化成甲醛。反应方程式为

$$CH_3OH + CuO \longrightarrow HCHO + Cu + H_2O$$

经氧化后得到的甲醛可按甲醛的检测方法鉴别。甲醛有比较专属的化学反应，可与其他醇类相区别。为了区分试样中甲醛与甲醇是否同时存在，可在对甲醇氧化之前先行检验，确证甲醛。检验甲醛的常用反应有变色酸反应和苯肼-铁氰化钾反应。

变色酸(chromatropic acid)在浓硫酸的存在下，能与甲醛反应，缩合成紫红色的化合物。取上述溶液 1 mL，加一小粒变色酸固体，振摇后沿管壁加入浓硫酸 2 mL。如含甲醛，溶液显紫红色。检测限为 1∶360 000。可利用所生成的紫色化合物在 580 nm 处的最大吸收，用分光光度法测定溶液中甲醛的含量。

甲醛在铁氰化钾作用下与苯肼反应能生成红色化合物。取氧化后的检液 1～2 mL，加入 2%盐酸苯肼溶液 1 mL，再加 1～2 滴 10% $K_3[Fe(CN)_6]$溶液和数滴盐酸，如含甲醛溶液显红色。检测限为 $1∶10^5$。

（三）苯酚与苯甲酚

1. 理化性质与毒性　苯酚(phenol，C_6H_5OH)俗称石炭酸。纯品为无色针状结晶，因受光照或在空气中氧化常呈现为淡红色或红色。苯酚味辛、有吸湿性，熔点 41℃，沸点 181℃，能溶于水，易溶于乙醇、乙醚和氯仿中。水溶液呈很弱的酸性。

苯甲酚(cresol，$C_6H_4CH_3OH$)又称甲酚或煤酚。根据甲基所在苯环上位置的不同可出现邻位、间位和对位三种苯甲酚的同分异构体。邻、间、对异构体的沸点分别为 190.8、202.7、201.9℃。苯甲酚难溶于水，有特殊气味。甲酚皂溶液(俗称的来苏儿水)是含 50%苯甲酚的肥皂液。

苯酚是重要的工业原料，甲酚皂溶液常用作杀菌消毒剂。因苯酚、苯甲酚都具有较强烈的特异气味，他杀案件比较少见，偶有自杀和意外伤害的中毒案件发生。

人口服苯酚 8～15g 或服甲酚皂溶液 50 mL以上可致死亡。酚进入人体内被吸收后，一部分以原型酚或葡萄糖醛酸结合体的形式从尿中排出，一部分被氧化成二氧化碳和水，少量邻苯二酚和对苯二酚从尿液中排泄。代谢产物中因含醌类物质而使尿液呈现绿色。正常人的血和尿中通常也含一定量的酚。血清中酚含量约为 13 mg/L，尿中酚含量约为 24 mg/L。此外，蛋白质腐败也能产生酚，毒物化验时应留意。

2. 检验方法　酚中毒检验应取尿液为检材。中毒死亡者可取血、胃内容物、胃组织、肾、肝等检材进行检验。检材经酸化后用蒸馏法分离，收集蒸馏液进行检验。如用薄层色谱法或气相色谱法进行检验，需用少量乙醚等低沸点的有机溶剂对蒸馏液进行萃取。低温挥干有机溶剂后，再用适当的溶剂定容后测定。

（1）化学法

① Millon 试剂反应　Millon 试剂是由汞和发烟硝酸 1∶1 混合，再加入 2 倍的水稀释而制得。酚与 Millon 试剂作用，生成红色的螯合物。取蒸馏液加入数滴 Millon 试剂，水浴煮沸加热，如有苯酚，溶液呈深红色。Millon 试剂与邻甲酚反应呈浅橙色，与间甲

酚反应呈黄色；与对甲酚反应呈黄绿色。但与甲酚皂溶液反应也呈红色。反应的检测限为 1∶10^4。

② 三氯化铁反应　苯酚和苯甲酚都能与 Fe^{3+} 反应生成有色络合物。取蒸馏液滴加 2～3 滴三氯化铁试剂，如有苯酚或苯甲酚，溶液呈蓝色或蓝紫色。此颜色加盐酸或乙醇即可消失。本反应的检测限是 1∶1 000。因三氯化铁显黄色，滴加过量会影响结果的观察。

③ 溴水反应　苯酚与溴水反应能生成三溴苯酚。在蒸馏液中加入数滴饱和溴水，如有苯酚，则生成白色或乳黄色三溴苯酚沉淀。苯甲酚也呈阳性反应。检测限为1∶50 000。苯胺、水杨酸也能生成沉淀。蛋白质腐败产生的酚也能检出。

苯酚和苯甲酚有许多共同的反应，检验过程中可根据反应的灵敏度不同选择使用上述反应。如溴水反应可较灵敏地检出是否有酚类化合物存在；三氯化铁反应阳性意味着检材中可能有较大量的酚。

（2）薄层色谱法　取蒸馏液加氯化钠盐析，经盐酸酸化后用乙醚提取，提取液用无水硫酸钠脱水，浓缩后用于薄层色谱分析。吸附剂用硅胶 G，展开剂用苯和氯仿，显色剂用 0.5%的 2,6 -二氯醌氯亚胺乙醇溶液。显色后的薄层板再置于氨蒸气中熏蒸片刻，苯酚和苯甲酚都显蓝色斑点，甲酚皂溶液可出现 2～4 个斑点。

（3）紫外分光光度法　苯酚的乙醇溶液在紫外光区的最大吸收是 272 nm；在氢氧化钠溶液中最大吸收峰移到 286 nm。

（4）气相色谱法　蒸馏液用乙醚提取，提取液挥去乙醚后用丙酮定容，取丙酮溶液进样。固定相可用 OV－17 或 CD－550，柱温 160℃，FID 检测。各成分的保留时间从小到大顺序大致为：苯酚、邻甲酚、间甲酚、对甲酚。

（四）其他挥发性毒物

近年来，引起中毒的挥发性毒物种类在不断地变化和增多。如家庭装修中经常遇到的苯、甲苯、甲醛、醋酸乙酯等有机溶剂，以及制造毒品过程中所需的乙醚、丙酮、醋酸酐等挥发性物质都会给人体健康造成很大的危害。这类物质可使人发生急性中毒，而且有致癌、致畸和致死的可能。由挥发性有机溶剂引发的中毒事件日益增多，必须引起人们的高度重视。我国早已把这类有机溶剂列人国家控制的化学品范围，严禁非法买卖和滥用。对这些挥发性有机毒物常采用气相色谱法或顶空气相色谱法进行分析。这里介绍几种常见的有机溶剂。

1. 苯、甲苯与二甲苯　苯（benzene，C_6H_6）是无色、有芳香气味的液体，是最简单的芳香族化合物。易挥发，易燃，可与空气形成爆炸性混合物。沸点 80.1℃，不溶于水，能与非极性有机溶剂以任意比例混溶，可随水蒸气蒸馏。苯常作为溶剂或稀释剂的主要成分广泛用于化工行业，制备油漆、染料、塑料、橡胶等化工产品。

甲苯（toluene，$C_6H_5CH_3$）与二甲苯（dimethylbenzene，$CH_3C_6H_5CH_3$）都是重要的芳香烃类和化工原料，是易挥发、易燃性液体。化学性质多与苯相似。

苯、甲苯和二甲苯的蒸气都有毒。都具有强烈的刺激作用和较强的麻醉作用。许多情况下遭受苯侵害的同时也有甲苯和二甲苯的存在。苯损害造血系统且作用大于甲苯和二甲苯，甲苯的刺激作用和对神经系统的作用最强。当清洗贮苯罐及蒸馏设备，或在密闭、通风不畅的地点接触以苯等为油漆的速干成分或含苯的化工原料时，极易引起苯、甲苯和二甲苯急性中毒。苯及其化合物在更多的情况下引起的是慢性中毒，这些物质会在骨髓中积累，造成伤害。人吸人含苯 40%～50% 的溶剂蒸气及空气中苯的浓度为 5 mg/L时，几分钟后意识丧失，5 h 内即可死亡。苯的致死血浓度为 0.09 mg /L。

苯、甲苯和二甲苯中毒的检材可通过水蒸气蒸馏的方式分离后检测或直接采用顶空气相色谱法检测。

2. 甲醛　甲醛(formaldehyde，HCHO)纯品在常温下是无色可燃性气体。沸点－19.5℃，比空气稍重。有刺激性气味，对黏膜、呼吸道具有强烈的刺激作用。易溶于水，微溶于醇或醚。甲醛溶液久置可析出甲醛沉淀。含甲醛40％的水溶液称之为福尔马林，可与蛋白质中的氨基结合使蛋白质凝固。甲醛是室内装修的主要污染物之一，空气中有0.001 mg/L 甲醛就可使较敏感的人发生上呼吸道及眼刺激、呼吸节律紊乱、自主神经状态改变等。随着甲醛浓度升高还可发生恶心、呕吐、咳嗽、胸闷、气喘。当浓度大于65 mg/m^3时还可引起肺炎、肺水肿等损伤，甚至导致死亡。人口服6％的甲醛100～200mL可以致死。长期接触低剂量甲醛(0.017～0.068 mg/m^3)可以引起慢性呼吸道疾病、女性月经紊乱、胎儿发育不良或染色体异常，甚至引起鼻咽癌。高浓度的甲醛对神经系统、免疫系统及肝脏等都有毒害，长期接触较高浓度的甲醛会出现急性精神抑郁症。甲醛还有致畸、致癌作用，据流行病学调查，长期接触甲醛的人，可引起鼻腔、口腔、鼻咽、咽喉、皮肤和消化道的癌症，国际癌症研究所已经建议将其作为可疑致癌物对待。

检验甲醛除用气相色谱法外，还可参见前述的“甲醇氧化成甲醛”后对甲醛的鉴别方法。也可与Schiff试剂反应。Schiff试剂是亚硫酸(H_2SO_3)作用于品红使之退去红色的无色溶液，遇醛则恢复醌式结构而呈蓝紫色。在有适量硫酸存在下反应对甲醛专一，其他醛不干扰测定。检测限是1∶1 000。

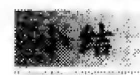
3. 乙醚　乙醚(diethyl ether，$CH_3CH_2OCH_2CH_3$)系挥发性极强，具有特殊气味的液体。沸点是34.6℃，易燃烧。不溶于水，能和大多数有机溶剂混溶。是最常用的有机溶剂之一。

乙醚在临床上用作麻醉剂，使用不当可引起中毒。也有用乙醚进行麻醉后作案的报道。乙醚多由吸入性引起中毒。进入体内后引起麻醉作用，并刺激呼吸系统黏膜，引起呼吸障碍。过量吸入可引起呼吸麻痹而死亡。吸入浓度为100 mg/L时，在30～40 min内可导致意识丧失。乙醚在体内大部分不代谢，由肺部排除。少量可代谢为二氧化碳。由于乙醚挥发性极强，作案后空气中的乙醚会很快散去，检材收集相对困难。检验乙醚最常用的化学方法是生成碘化汞反应，用氢碘酸使乙醚的烷氧键断裂，生成碘乙烷，分离出碘乙烷后，使其与硝酸汞反应生成朱红色的碘化汞。此反应是醚类的共有反应。

4. 信纳水　信纳水(thinner)是工业上常用的有机稀释剂，它的主要成分是甲醇、醋酸乙酯、醋酸丁酯、苯及甲苯等，其组成随制造厂商及使用目的的不同而略有不同。信纳水通常为无色透明液体，有特殊的芳香气味，遇火易燃烧，难溶于水，能与乙醚、氯仿、苯等有机溶剂以任意比例混溶。

信纳水中大多数成分具有兴奋、致幻及麻醉作用，通常认为信纳水的麻醉作用比乙醚大20～30倍。在西方一些国家常为一些青少年所滥用。吸入信纳水蒸气后，能引起心律不齐、气管痉挛、血压急速下降，严重者可因窒息而死亡。

信纳水中毒检验常采用顶空气相色谱法，FID检测器。一般用两种以上色谱柱测得的色谱图与商品信纳水测得的色谱图进行比对来定性确证。



小结

气体毒物或挥发性较大的毒物所引发的中毒要迅速采集检材，盛装于较小的容器中密封

包装、保存并及时送检，为留取案件证据和提高毒物分析的准确率做好前期工作。普鲁士蓝法鉴定氰化物是一个专属反应，灵敏、准确，在各级毒物分析实验室均可完成。气相色谱的工作原理、样品处理和分析过程是本章中分析工作的难点和核心。顶空气相色谱的进样方式可使检测更便捷和准确。GC－FID法测定血液中的乙醇和甲醇浓度在法医学鉴定中被广泛应用。其他易挥发的小分子碳氢化合物或常见的有机溶剂，如苯、甲苯、二甲苯等，如需定性、定量分析时均可在此检测的基础上，适当调节气相色谱分析条件即可完成测试。

Summary

The poisoning case caused by gas or high-volatile poison requires us to collect the material rapidly. In order to fetch case evidence and raise the accuracy of the poison analysis, it is necessary to store them in a small container and send them for detection as soon as possible. Prussian blue reactions is an analysis method if high specificity, sensitivity and accuracy, which can be accomplished in every poison analysis laboratory. The work principle, sample treatment and analysis procedure of GC are the most difficult and important part of this chapter. GC－FID has been extensively used in forensic drug analysis to determine the ethanol and alcohol concentration in blood. The qualitation and quatitation of some high-volatile hydrocarbon or some general organic reagents such as benzene, methylbenzene, dimethyl benzene can be easily accomplished by modifying the chromatographic condition based on the primary test.

思考题

1. 简述气体和挥发性毒物在检材的包装、保存、送检方面有哪些特殊性？
2. 以一氧化碳为例说明气体毒物中毒应选择什么检材？为什么？
3. 血液中 HbCO 饱和度是如何定义的？在案情定性方面有何意义和规定？
4. 挥发性毒物的分离依据是什么？各方法的注意事项和特点是什么？
5. 氰化物检材敞口存放于潮湿空气中，鉴定结果为阴性。对结果可信度作出评价。
6. 用 GC－FID 法可否同时定量分析血液中的甲醇和乙醇？如何操作？
7. 碘仿反应可否作为乙醇的确证试验？为什么？
8. 尸体血中检出了微量乙醇和平行量的正丙醇，你如何看待分析结果？
9. 采用顶空气相色谱法的优越之处在哪里？检材应如何处理？
10. 一送检蜡丸中有白色晶体，疑似氰化物。请你简述鉴定过程。

（华中科技大学法医学院　金鸣）

第六章 医用合成药物

要 点	
概述	临床用药物种类虽然繁多，但投毒、误服中毒、自杀和医疗纠纷等（事）案件中涉及较多的为中枢神经系统药物中的安眠镇静药和外周神经系统药物的局部麻醉药。此外还有易引起过敏反应的抗生素药物等。由于该类物质为临床正常用药，进行毒物分析时除进行定性分析外，应重视含量测定以确定是否超过正常剂量或达到中毒量或致死量。检验方法除个别经典的化学方法外，通常采用气相色谱法、气相色谱/质谱联用法和高效液相色谱法等。除检测体内原药外，还要注意代谢物和药物杂质的检测。
检材采取要求及处理原则	涉及此类药物的分析可采取剩余药物、胃内容物、血液、尿液，注意正确保存和送检，尤其是对可能涉及医疗纠纷的事件更应及时采取剩余输液、服剩药物等，并妥善保管。
巴比妥类	苯巴比妥，用于麻醉抢劫比较多。苯巴比妥气相色谱保留时间相对较长。该类药物毒性相对较小，为酸性药物，制剂多为碱金属盐。
苯二氮䓬类	地西泮与三唑仑，常被用作麻醉抢劫犯罪。对于较洁净的检样，可用紫外吸收光谱法，但要注意溶剂对光谱的影响。此类药物的气相色谱行为不甚稳定，但在质谱法中通常可得到分子离子。液相色谱法分析效果较好。
吩噻嗪类	吩噻嗪类药物中较常见的是异丙嗪、氯丙嗪。此类药物易被许多氧化剂氧化成亚砜类、醌类化合物而显色，因此要求检材应注意闭光保存。可用光谱法测定。气相色谱行为不甚稳定。在质谱法中通常得不到分子离子。液相色谱法分析效果较好。分析时要注意被氧化后的分解产物。
局部麻醉药	普鲁卡因、利多卡因等局部麻醉药在医疗纠纷时常作为检测对象。该类药物种类繁多，化学结构的共性不强。气相色谱行为较好，其他的色谱方法都可使用。
抗生素类	与抗生素药物相关的医疗纠纷近年来呈上升趋势，对这类事件进行毒物分析应及时采取剩余输液、服剩药物、血液、尿液等检材。

本章所定义的医用合成药物（synthetic medicine）主要是指那些通过化学合成所得到的临床用药物。本章主要介绍中枢神经系统药物（central nervous system drugs），另包括外周神经系统药物（peripheral nervous system drugs）中的局部麻醉药（local anesthetics）和易

引起过敏反应的抗生素(antibiotics)。这些药物若使用过量或使用不当会导致中毒甚至死亡。主要有巴比妥类、吩噻嗪类、苯二氮䓬类安眠镇静药，利多卡因、丁卡因等局部麻醉药，和β-内酰胺类抗生素等。其中麻醉药和抗生素药物等使用不当造成患者中毒和死亡的医疗纠纷事件近年来呈增多趋势。这些药物往往不会对机体产生明显损伤，亦无特征性的尸检所见，毒物分析是主要的鉴定手段。

本章所述药物通常必须做定量分析，特别是对于血液样品，以确定血液中浓度是否超过治疗量、达到中毒量或致死量；必须十分注意体外检材的采取；必须在样品前处理时依药物不同而调节不同的pH。

第一节　巴比妥类药物

巴比妥类(barbiturates)药物大都属于国家管制的精神药物，长期使用会产生依赖性。导眠能(glutethimide)的结构和作用与巴比妥类药物相似，也归在本类药物中介绍。

一、结构与特性

巴比妥类药物是巴比妥酸(barbituric acid)的衍生物。其母核结构巴比妥酸是一个六元含氮杂环，也称为环丙二酰脲，由丙二酸与尿素脱水缩合而成(图 6-1)。巴比妥类药物多为巴比妥酸的5,5-取代物，通常为烷基、不饱和烃基、芳香烃基和环烃基等(表 6-1)。个别的有3位的氢被甲基取代的。其2位羰基上的氧被硫取代后称为硫代巴比妥，硫喷妥就是一种硫代巴比妥。

丙二酸　尿素　环丙二酰脲

图 6-1　巴比妥类的母核结构

表 6-1　常见巴比妥类药物的取代基

名　称	母体上取代基	
	5位第一取代基	5位第二取代基
巴比妥(barbital)	$-C_2H_5$	$-C_2H_5$
苯巴比妥(phenobarbital)	$-C_2H_5$	$-C_6H_5$
戊巴比妥(pentobarbital)	$-C_2H_5$	$-CH(CH_3)(CH_2)_2CH_3$
异戊巴比妥(amobarbital)	$-C_2H_5$	$-(CH_2)_2CH(CH_3)_2$
司可巴比妥(secobarbital)	$-CH_2CH{=}CH_2$	$-CH(CH_3)(CH_2)_2CH_3$

巴比妥类药物多为白色结晶或结晶性粉末，无臭、苦味；硫喷妥呈浅黄色，略有蒜味；这些药物都有一定的熔点，加热能升华；多数易溶于乙醇、乙醚、氯仿等有机溶剂，难溶于水和石油醚等。巴比妥类药物在溶液中可形成烯醇式结构而显弱酸性，其 pK_a 值在7.3～8.4范围内，能与强碱生成盐而溶于水，注射剂为钠盐。因在碱性水溶液中易水

图 6-2　导眠能(glutethimide)

解，通常制成粉针剂，使用前加水溶解。导眠能（结构如图 6-2）比巴比妥类药物的酸性弱，其 pK_a 为 9.20。

二、毒理作用

临床常用的有巴比妥（barbital）、苯巴比妥（phenobarbital）、异戊巴比妥（amobarbital）和司可巴比妥（secobarbital）。药效和毒性差异较大，一般治疗量的10倍以上可致中毒。常用药物的致死量为：巴比妥为 5～10 g，苯巴比妥为 4～9 g，异戊巴比妥为 2～5 g，司可巴比妥为 1～5 g。

巴比妥类药物口服或肌内注射后迅速分布于全身组织，肝、肾中含量较高。根据脂溶性的不同，巴比妥类药物透过血脑屏障进入脑组织的快慢也不同，脂溶性高的药物（如硫喷妥钠、司可巴比妥）比脂溶性低的药物（如巴比妥、苯巴比妥）更易进入脑组织。巴比妥类药物可经肝脏代谢或以原药形式由肾排出。不同种类巴比妥药物的毒性、个体差异较大。急性中毒会出现嗜睡、神志不清、昏迷、体温下降、呼吸缓慢、发绀、肢体无力、深昏迷等症状。慢性中毒症状为皮疹、语言不清、失眠、健忘、共济失调等。解救急性中毒者时，可采取洗胃、利尿等措施。

三、检材采取与处理

1. 检材采取　注意收集剩余药物或注射器具等；注意收集血液，对于口服中毒者收集呕吐物和洗胃液；对于中毒致死者还可收集肝、脑、肾等检材。此外，不同巴比妥类药物的中毒时效也有所不同，还应根据各种药物吸收排泄的快慢、采取检材的时间等情况，有针对性地选取适当的检材。其中，巴比妥与苯巴比妥的代谢和排泄速度较慢，大剂量摄入者经数日后还能从尿中检出原体药物；而硫喷妥钠的代谢和排泄速度较快，注射后不久即代谢为戊巴比妥随尿液排出（图 6-3）。因此，尿液中能否检出巴比妥类药物取决于采样的时间和药物的种类。

硫喷妥(thiopental)　→　戊巴比妥(pentobarbital)

图 6-3　硫喷妥代谢为戊巴比妥

2. 检材处理　药片、药粉等简单的体外检材用酸性水溶液浸取过滤，用有机溶剂提取浓缩；注射液、尿液可直接调节至酸性后，用有机溶剂提取；血液或各种组织检材匀浆后选择合适方法除蛋白质，再调至酸性，用有机溶剂萃取。用碱液进行反提净化或用吸附柱净化。为了避免巴比妥类药物在碱性溶液中水解（导眠能更易水解），此类药毒物在提取过程中不宜在碱性溶液中放置过久。

巴比妥类药物是有代表性的酸性药物之一，制剂多为碱金属盐，应在酸性条件下游离出原体，用有机溶剂提取。

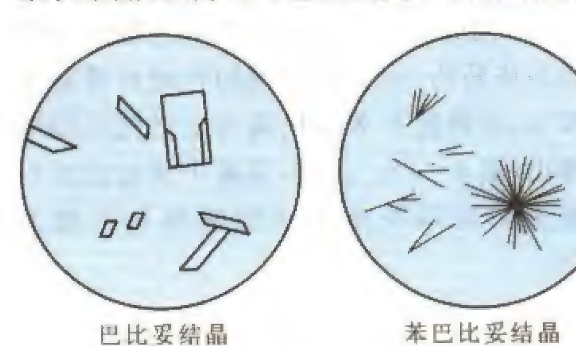
四、检测方法

1. 结晶反应　较纯的药品制剂用有机溶剂提取净化浓缩后可用下列结晶反应检验。

(1) 硫酸铜-吡啶结晶反应　将检样少许置于载玻片上，加一滴 5% 氨水溶解后，滴

加1滴1%硫酸铜-吡啶试剂，如为巴比妥即出现紫色混浊，放置片刻，镜下观察，可见十字形淡紫色结晶，检出限20 μg；如为苯巴比妥则出现细小不规则或似菱形的浅紫色结晶；有的药物不形成结晶，但可显色。

（2）碘-碘化钾磷酸结晶反应　大多数巴比妥类药物都能和碘-碘化钾磷酸试剂形成特殊结晶，检出限为20～50 μg。检样少许，置载玻片上，加1%氢氧化钠1滴溶解，再加1～2滴碘-碘化钾磷酸试剂，镜下观察。如为巴比妥则出现棕黑色两端不整的棒状或针状结晶；如为苯巴比妥则出现棕黑色细针簇状结晶（图6-4）；如为异戊巴比妥则出现棕黄色片状结晶；如为戊巴比妥生成黑色花束状结晶；如为司可巴比妥则不出现结晶。



巴比妥结晶 (barbital crystal)　　苯巴比妥结晶 (phenobarbital crystal)

图6-4　巴比妥类药物与碘-碘化钾磷酸生成的结晶

（3）三氯化铁-碘化钾结晶反应　取试样少许置于载玻片上，滴加三氯化铁-碘化钾试剂1滴，盖上盖玻片，在酒精灯上加热至产生气泡为止，如有巴比妥类药物，稍冷后即产生结晶。如为巴比妥则结晶呈棒状；如为苯巴比妥则结晶呈簇状；如为异戊巴比妥则结晶呈花瓣状。

2. 显色反应

（1）碱性钴盐试验　巴比妥类药物的结构中含1,3-二酰亚胺基团，在碱性无水条件下可与钴盐产生紫堇色配合物。取1～2滴无水乙醇或甲醇检样溶解液，加1滴硝酸钴醇溶液，混匀后从旁边加1滴5%异丙胺的醇溶液，如有巴比妥类药物，接界处渐显紫堇色，检出限为100 μg。此反应不是巴比妥类药物的专属反应，一些含酰亚胺结构的化合物，如磺胺类药物、导眠能等均呈阳性。但仍可用于巴比妥类药物的筛选。

（2）铜盐-吡啶试验　巴比妥类药物分子中含有—CONHCONH—基团，也可发生类似肽键的缩二脲反应。此反应可在吡啶碱性溶液中进行，巴比妥类药物与铜盐作用生成紫红色配合物，含硫巴比妥显绿色，检出限100～200 μg。可区分含硫与不含硫的巴比妥类药物。取少许检样，加1～2滴1%硫酸铜-吡啶试液，如有巴比妥类药物则显色。

（3）汞盐-二苯卡巴腙反应　在弱碱性条件下，巴比妥类药物可与二价汞盐（硝酸汞或氧化汞）作用生成白色汞盐，此盐可溶于氯仿，再与二苯卡巴腙（diphenylcarbazone）试剂作用生成紫堇色配合物，其最大吸收峰在560 nm处，此反应灵敏度较高，可进行比色测定，也可作为TLC显色剂。导眠能也有相同反应。

（4）导眠能的异羟肟酸铁盐反应　导眠能具有酰亚胺结构，可以和羟胺发生异羟肟酸铁反应。取检样少许，加盐酸羟胺溶液数滴，用10%氢氧化钠调节至pH 12左右，放置数分钟，再滴加10%盐酸至pH 3～4，加1滴1%三氯化铁，如有导眠能存在，即生成暗紫红色异羟肟酸铁配合物。此配合物在510 nm处有最大吸收，可用异丁醇萃取进行定量分析。含酰胺键或酯类结构的化合物对此反应可能产生干扰，如氟乙酰胺或马拉硫磷等。

上述结晶反应与显色反应灵敏度不高，干扰因素较多，要求样品比较纯净。可能出现假阴性与假阳性的情况，一般用于体外检材的预试和筛选。

3. 光谱法

（1）紫外吸收光谱法　巴比妥类药物的紫外光谱具有一定的特征性，由于不同pH条

件可发生内酰胺(lactam)与内酰亚胺的(lactim)互变异构导致化学结构的共轭变化。因此,吸收峰位置可随溶液 pH 的改变而发生移动。

例如,5,5-二取代巴比妥类药物在不同 pH 溶液中可按下式发生一级电离或二级电离(图 6-5):在 pH<2 的酸性溶液中,各种非硫代巴比妥类药物均为非电离状态,仅在 210 nm附近有一肩峰,而硫喷妥则在 238 nm 和 290 nm 附近各有一吸收峰;在 pH 10 左右的碱性条件下,由于发生一级电离,非硫代巴比妥在 240 nm 附近出现吸收峰,硫喷妥的两个吸收峰分别红移至 255 nm 和 305 nm 处;在 pH≥13 的溶液中,5,5-二取代巴比妥可发生二级电离,其吸收峰红移至 255 nm 附近(图 6-6)。

图 6-5 不同 pH 下内酰胺(lactam)与内酰亚胺的(lactim)的互变异构

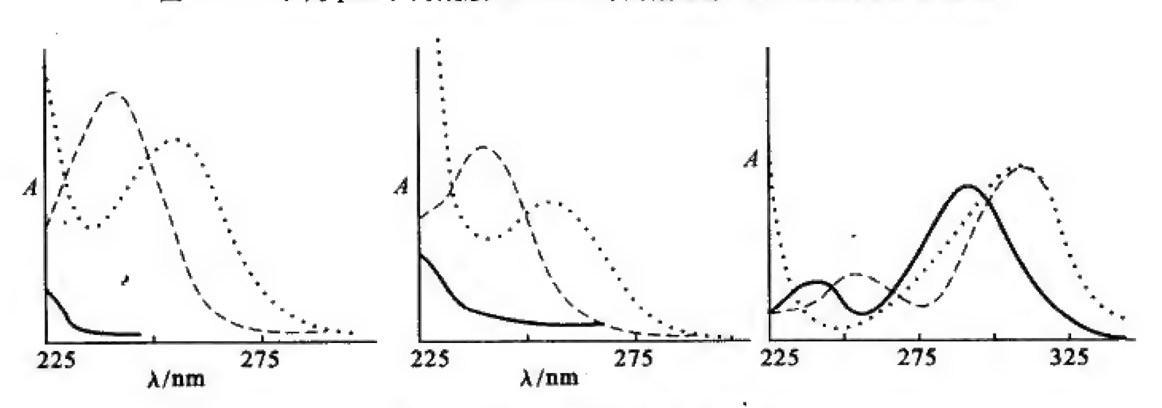


图 6-6 不同 pH 下的吸收曲线

左:巴比妥;中:苯巴比妥;右:硫喷妥

—pH 2;……pH 9.2;---pH 13

1,5,5-三取代的巴比妥类药物(如海索巴比妥,hexobarbital)分子(图 6-7)中仅有一个活泼氢,不能形成二级电离,吸收峰仍在 240 nm 附近,而硫喷妥仅 305 nm 有吸收峰,255 nm 的吸收峰消失。与巴比妥类药物不同,导眠能醇液中的紫外吸收光谱吸收峰在 251、257 nm 和 263 nm,是较弱的吸收,碱液中可因电离而在 235 nm 处出现一强吸收峰,但由于不断水解,其吸收值随时间推移不断降低。可根据这些光谱特性区别不同类型的巴比妥类及导眠能药物。

图 6-7 海索巴比妥(hexobarbital)

紫外吸收光谱法还可用于巴比妥类药物的定量分析,通常用差示分光光度法。对于 5,5-二取代巴比妥类药物的测定,可将检样溶液分成相等的两份,一份调节至 pH 14,另一份调节至 pH 10,且浓度相同;将 pH 10 的一份溶液置于参比池,pH 14 的一份溶液置于样品池,在 255 nm 处测定吸光度 A(即两种溶液的吸收度差值 ΔA)。用已知药物对照品配制成一系列浓度的标准溶液,按上述方法测定,做出标准曲线,根据 ΔA 值在标准曲线上求出检液浓度。用差示分光光度法测定可消除在这两种

pH条件下吸收值不变的一些杂质的干扰。

(2) 红外吸收光谱法　红外吸收光谱能反映出分子结构中的微细差别，不同的巴比妥类药物的红外光谱不同。例如，戊巴比妥与异戊巴比妥的结构相似，用一般化学方法或薄层色谱法难以鉴别，但在红外吸收光谱的指纹区可得以鉴别。异戊巴比妥的5-位取代基末端有两个甲基接在同一个碳原子上（称为同碳二甲基），同碳二甲基的存在使甲基上的C—H弯曲振动的吸收峰1 370 cm^{-1}裂分为1 355 cm^{-1}和1 378 cm^{-1}两个峰，可与戊巴比妥相区别。红外光谱法适合纯度较高、样品量较大的体外检材。

4. 色谱法

(1) 薄层色谱法　常用硅胶G板及各种展开剂，用汞盐-二苯卡巴腙显色。经点样、展开并挥去展开剂后，先喷硫酸汞溶液，使薄层均匀湿润，此时巴比妥类药物斑点显白色，然后再喷0.2%二苯卡巴腙醇溶液，整个薄层显蓝紫色，并逐渐褪去，巴比妥药物斑点显紫堇色，含量高时为蓝紫带红色斑点。硫喷妥因易分解为戊巴比妥，常出现两个斑点，或仅出现戊巴比妥一个斑点。此显色方法对巴比妥、苯巴比妥、戊巴比妥、异戊巴比妥、司可巴比妥的检测限约1 μg，对硫喷妥的检测限约0.2 μg。检样中如含蛋白质及其分解产物，多显示偏蓝色斑点，不规则。

其他显色剂有1%的硝酸银（巴比妥类药物显白色斑点）、高锰酸钾水溶液（司可巴比妥等含不饱和取代基的药物显黄色，其他不含不饱和取代基的药物不显色）和TCBI（N-2,6-三氯对苯醌亚胺），巴比妥类药物斑点显蓝色，灵敏度很高。

(2) 气相色谱法　固定相可用中等极性的OV-17，Chromosorb W 60目、80目或100目，140～220℃程序升温。检材经提取净化后用氯仿溶解进样。以烯丙异丙巴比妥（aprobarbital）为内标物。巴比妥类药物的气相色谱行为非常好，色谱峰对称性良好。

在硅胶GF_{254}-CMC薄层板上点巴比妥类药物1 mg/mL的三氯甲烷溶液1 μg，用苯∶丙酮(8∶2)作展开剂展开后的R_f值顺序(由小到大)：巴比妥→苯巴比妥→戊巴比妥→异戊巴比妥→导眠能→硫喷妥。有的R_f值比较接近，需要多变换几种展开剂。根据展开剂的不同，不同巴比妥类药毒物的R_f值排列顺序也经常出现前后颠倒的情况。

各巴比妥类药物的出峰次序依次为：巴比妥、烯丙异丙巴比妥、异戊巴比妥、戊巴比妥、司可巴比妥、硫喷妥、苯巴比妥。

(3) 高效液相色谱法　由于苯巴比妥在法医毒物分析中为常见，现以苯巴比妥为例。色谱柱可用Lichrosorb C_1 (250 mm×4 mm×10 μm)，用甲醇-10 mmol/L磷酸二氢钾(58∶42)作流动相，以紫外检测器检测，检测波长210 nm，流速1 mL/min。取血清0.2 mL，加1 mol/L的磷酸缓冲液0.2 mL，混匀，加内标液非那西丁的乙酸乙酯溶液(5 μg/mL)5.0 mL，振摇1 min，离心15 min；取酯层，氮气下吹干，甲醇100 μL溶解残渣，进样20 μL。出峰顺序为内标非那西丁在前，苯巴比妥在后。

(4) 气相色谱/质谱联用分析法：气相色谱/质谱联用(GC-MS)分析是鉴定有机化合物的有力手段。各种巴比妥类药物的质谱图与化合物一一对应(图6-8)，专一性很强。

操作条件示例：

色谱条件　色谱柱HP-5MS(5% phenyl methyl siloxane) 30 m×0.25 μm×0.25 mm；载气：He；流速：1mL/min；柱温：程序升温50℃→20℃/min→90℃→5℃/min→250℃；进样口温度：250℃；分流比40∶1，辅助线温度：280℃。离子源：230℃；四极杆：150℃；电离方式：EI；采集方式：扫描；扫描质量范围：35～500 mAU。

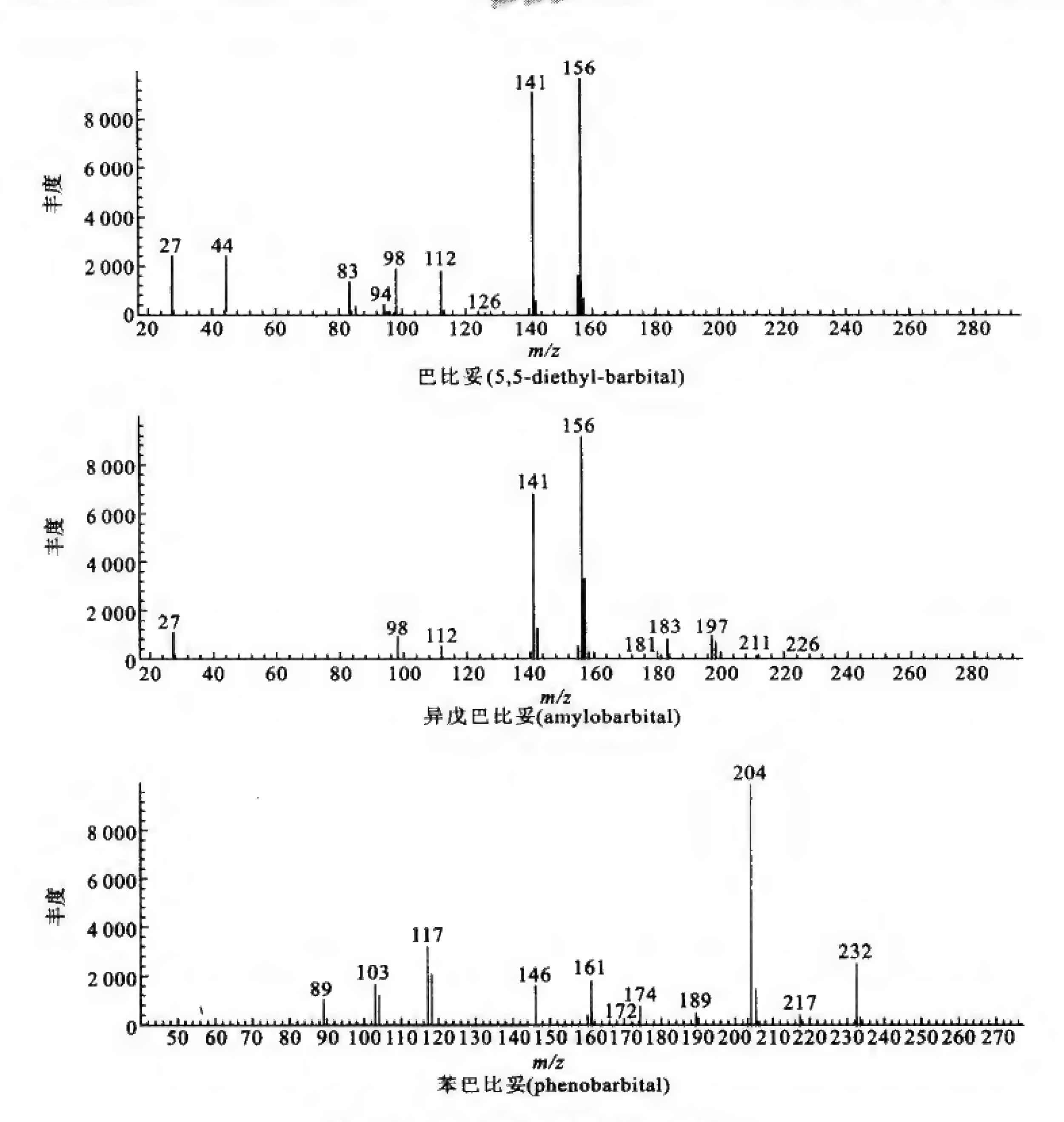


图 6－8　巴比妥类安眠镇静药的质谱图

第二节　苯二氮䓬类药物

苯二氮䓬(benzodiazepines)药物是一类抗焦虑药物，同时具有镇静催眠、抗惊厥、抗癫痫作用，又称为弱安定药物。最先应用的有氯氮䓬和地西泮，后来硝西泮、奥沙西泮、艾司唑仑、三唑仑、阿普唑仑等相继上市。很多品种属于国家管制的第二类精神药品。该类药物包括氯氮䓬(chlordiazepoxide)、地西泮(diazepam)、氟西泮(flurazepam)、奥沙西泮(oxazepam)、硝西泮(nitrazepam)、艾司唑仑(estazolam)、三唑仑(triazolam)等。其中三唑仑、艾司唑仑等不仅在临床上使用很普遍，也常被用于麻醉抢劫和麻醉强奸。

一、结构与特性

本类药物除了具有三元环的 1,4 -苯二氮䓬类外(图 6－9)，还有具有四元环的 1,2

位骈五元杂环的唑仑类(图 6-10)。前者以地西泮(安定)为代表,后者以三唑仑为代表;两类常见药物结构的取代基列于表 6-2 中。

本类药物的纯品多为白色或黄色结晶性粉末,无臭,无味或具苦味;具有碱性,能与酸成盐;游离碱多难溶于水,而其盐可溶于水;其结构中的七元环在强酸中可水解开环。

图 6-9 1,4-苯二氮䓬的母体

三唑仑(triazolam) 艾司唑仑(estazolam) 阿普唑仑(alprazolam)

图 6-10 四环唑仑类的三个代表物

表 6-2 常见苯二氮䓬类药物的结构中的取代基

母体结构与名称	常用别名	取 代 基
1,4-苯二氮䓬类		
地西泮(diazepam)	安定	$1—CH_3, 7—Cl, R_1 =—H$
氟西泮(flurazepam)	氟安定	$1—CH_2CH_2N(C_2H_5)_2$, $7—Cl, R_1 =—F$
硝西泮(nitrazepam)	硝基安定	$7—NO_2, R_1 =—H$
氯硝西泮(clonazepam)	氯硝安定	$7—NO_2, R_1 =—Cl$
奥沙西泮(oxazepam)	去甲羟基安定	$3—OH, 7—Cl, R_1 =—H$
氯氮䓬(chlordiazepoxide)	利眠宁	$2—NHCH_3, 4 \rightarrow O, 7—Cl$ 2,3 位双键,$R_1 =—H$
三唑仑苯二氮䓬类		
三唑仑(triazolam)	三唑安定	
艾司唑仑(estazolam)	舒乐安定	
阿普唑仑(alprazolam)	甲基三唑安定	

二、毒理作用

苯二氮䓬类属中枢神经系统药物,其主要毒性作用是抑制中枢神经,中毒后一般出现不同程度的嗜睡、头昏、乏力、共济失调等症状。此类药物的毒性比巴比妥类弱,但长期服用亦可产生依赖性,用量较大可致昏迷或呼吸循环抑制。尸检可见明显尸斑,口唇、

指甲青紫，内脏淤血，肺水肿、脑水肿，有时在胃中可见有色胶囊的残留物或残存未溶解的白色粉末或药片。氯氮䓬致死量为 2 g，地西泮致死量为 100～500 mg/kg。对急性中毒的患者同样可采用洗胃、催吐、导泻、利尿等措施加快毒物排出。

三、检材处理

当怀疑苯二氮䓬类药物中毒时，应注意收集剩余食物、饮料、剩余药物等体外检材以及血、尿、洗胃液等体内检材；对死亡者，可取血、尿以及肝、脑组织。根据本类药物的溶解性，可选择不同的处理方法。药片、药粉、饮料沉渣等可用甲醇等溶剂直接浸取；生物检材可调节合适的 pH 用有机溶剂萃取。氟西泮游离碱水溶性较大，不宜用液-液萃取法分离，应采用固相萃取等方法处理。多数苯二氮䓬类药物的游离碱易溶于有机溶剂，成盐后易溶于水，可在弱碱性等条件下用有机溶剂提取，萃取溶剂可选用乙醚或氯仿。例如，氯氮䓬可在弱碱性下用乙醚萃取；地西泮可在弱碱性条件下或在 3 mol/L 磷酸二氢钠的溶液中用乙醚萃取；阿普唑仑、硝西泮、奥沙西泮可用氯仿等溶剂萃取。氯氮䓬的盐酸盐可部分溶于氯仿(1∶500)。净化可用碱液洗涤法或柱色谱法。本类药物在体内与血浆蛋白、葡萄糖醛酸等有较高的结合率，必要时应先将结合物水解再萃取。含阿普唑仑或三唑仑的尿液，可采用 β-葡萄糖醛酸酶水解，尿液先用 1 mol/L的醋酸酸化至 pH 5，加入酶后，于 37℃保温 2 h，然后调节 pH 进行萃取。

四、检测方法

1. 显色反应

(1) 芳伯胺试验　苯环上直接连有氨基，并且氨基上再无其他取代基，即为芳伯胺，或称芳香第一胺，这类化合物可发生重氮化显色反应。本类药物并无芳伯胺，但个别药物水解后七元环开环可生成芳伯胺。此方法是利用本类药物酸水解产物的显色反应进行检验。氯氮䓬及一些 1 位氮上无取代基的苯二氮䓬类药物如氯氮䓬、硝西泮、奥沙西泮、氯硝西泮、艾司唑仑等，经酸水解后生成含芳伯胺基的二苯甲酮衍生物，可用重氮化偶合显色反应进行预试验或筛选试验。

> 操作示例 6-1：
>
> 芳伯胺试验操作示例：取萃取净化后的药物残渣少许，加 5% 盐酸 2～3 mL，振摇，于沸水浴中加热 10 min，水解，水解液冷却至室温后再用冰水冷却至 0～50℃ 然后加入 0.1% 亚硝酸钠溶液 0.5 mL，摇匀后放置数分钟，再加 0.5 mL 2.5% 氨基磺酸胺 (NH_2SO_3 NH_4) 或 25% 的尿素 (NH_2CONH_2) 以除去多余的亚硝酸，摇匀后放置数分钟，待不再有气泡逸出，加入 1% 盐酸萘基乙二胺或碱性 β-萘酚试剂 0.5～1 mL，可生成紫红色或橙红色偶合物，此偶合物在 540 nm 附近有最大吸收，可用分光光度法进行定量。含芳伯胺基或酸水解后能生成芳伯胺的其他物质，如磺胺类药物、对氨基水杨酸、普鲁卡因、对乙酰氨基酚等对此反应均有干扰。1 位氮上有取代基的苯二氮䓬类药物，如地西泮、氟西泮等因不能水解成芳伯胺，不发生此反应。

(2) 甘氨酸试验　地西泮等药物经酸水解后生成甘氨酸，在碱性条件下可与茚三酮试液反应，生成的缩合物显蓝紫色，在 570 nm 处有最大吸收，可用于定性定量分析。

(3) 硫酸-荧光试验　苯二氮䓬类药物溶于硫酸后，在紫外光(365 nm)下，显不同颜色的荧光，可用对照品比较，检出限可达 1 pg左右。地西泮：黄绿色；氯氮䓬：黄色；艾司唑仑：亮绿色；硝西泮：淡蓝色。

2. 沉淀反应　氯氮䓬和阿普唑仑的盐酸溶液遇碘化铋钾试液，生成橙红色沉淀。

盐酸氟西泮的水溶液和氯硝西泮的稀盐酸溶液遇碘化铋钾试液也生成红色沉淀，而后者放置后沉淀颜色变深，可以相互区别。

3. 紫外分光光度法　如图6－11所示，本类药物都有苯环结构，因此都有较强的紫外吸收。并且各种药物的紫外吸收光谱差别较大可用于鉴别。

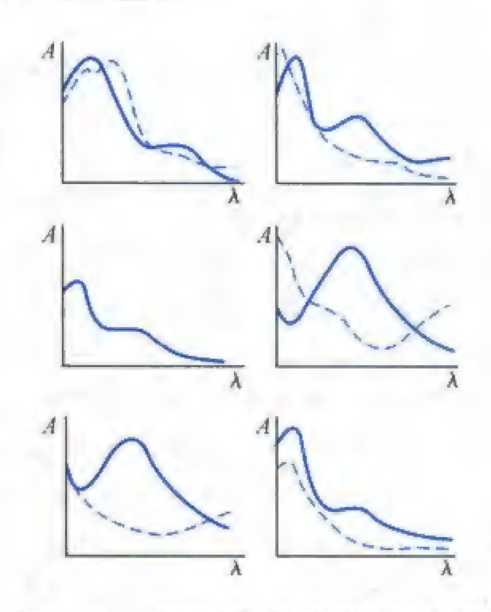


图6－11　苯二氮䓬类药物的紫外光谱图

实线：酸性水溶液，虚线：碱性水溶液，横坐标为波长(nm)。上左：氯氮䓬；上右：地西泮；中左：氟西泮；中右：硝西泮；下左：氯硝西泮；下右：奥沙西泮

4. 色谱法

(1) 薄层色谱法　苯二氮䓬类药物为碱性药物，用碱性展开剂展开效果较好。吸附剂可用硅胶G。下面是几种展开系统：①苯-丙酮-28％氨水(50：10：5)；②丙酮-28％氨水(99：1)；③叔丁醇-1 mol/L氨水(27：3)；④氯仿-乙醚-丙酮(8：1：1)。

此外，还可利用药物酸水解生成的二苯甲酮衍生物进行薄层色谱分析，需注意不同药物有可能得到相同的二苯甲酮类衍生物。可将检样在硅胶G薄层板上直接进行水解，将萃取物残渣的甲醇溶液在薄层板上点样后，在原点上滴加15％硫酸，用载玻片覆盖，置于120℃温箱中加热约20 min，使其水解，冷却后，于原点上加25％氨水中和，加热干燥，放冷后用氯仿-二氯甲烷(1：1)作展开剂，用药物对照品在同一薄层板上同法操作。

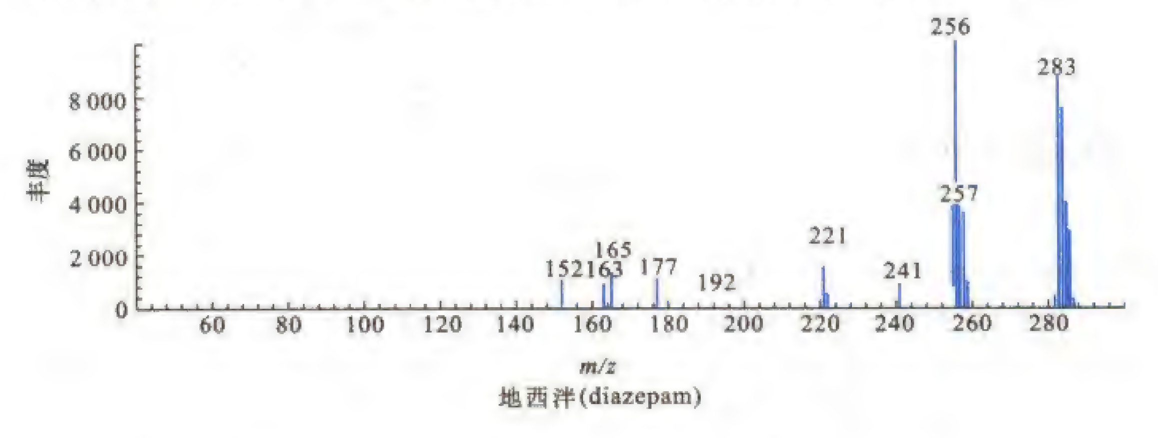
(2) 气相色谱法　本类药物的气相色谱行为欠佳。其中多数容易被色谱柱吸附或在色谱柱内分解，造成不能出峰或拖尾。故应选择吸附性小的固定相，通常选OV－1或DB－1等非极性或弱极性的色谱柱。由于本类药物的结构多含有吸电子的卤素等电负性较大的基团，用ECD检测器可增大检测灵敏度。

操作示例6－2：

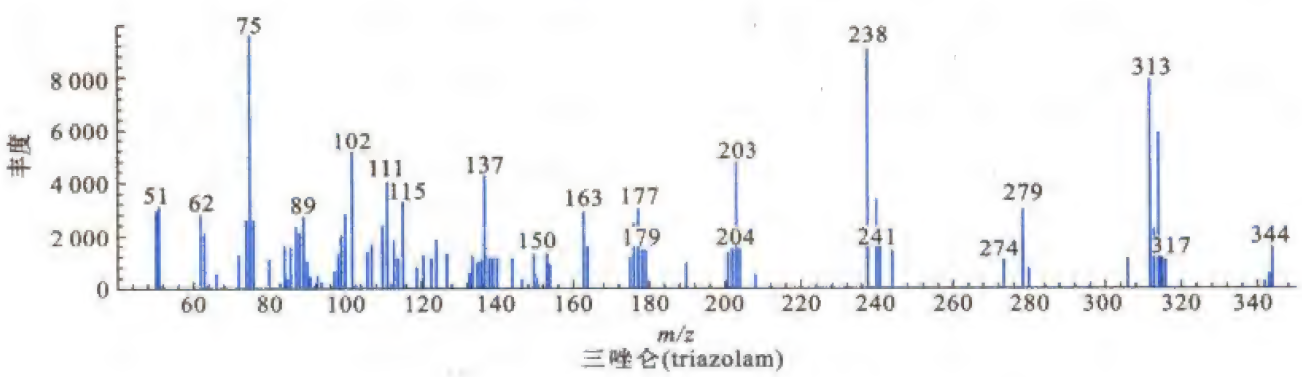
生物样品中苯二氮䓬类药物的提取分析操作条件示例：1 mL检尿加2 mL 0.25 mol/L碳酸钠溶液。用4 g Extrelut固相萃取，保持15 min，用10 mL氯仿：乙醚(1：1)萃取。氮气吹干后，用100 μL甲醇溶解，1 μL进样分析。色谱条件为：CBP－1－W12－300毛细管柱(12 m×0.53 mm i.d.)，FID检测器，初始柱温为210℃(1 min)，经程序升温(10℃/min)至280℃(8 min)，进样口300℃，检测器300℃，载气为氮气(18 mL/min)。

苯二氮䓬类药物气相色谱的保留时间顺序为：美达西泮(medazepam)→氟西泮(fludiazepam)→劳拉西泮(lorazepam)→地西泮(diazepam)→氯䓬酸钾(dipotassium clorazepate)→氯噻平(clotiazepam)→恶唑仑(oxazolam)→氯恶唑仑(cloxazolam)→氟硝西泮(flunitrazepam)→溴西泮(bromazepam)→普拉西泮(prazepam)→卤噁唑仑(haloxazolam)→硝甲西泮(nimetazepam)→美沙唑仑(mexazolam)→艾司唑仑(estazolam)→阿普唑仑(alprazolam)→托非索泮(tofisopam)→依替唑仑(etizolam)→三唑仑(triazolam)

(3)气相色谱/质谱联用分析法　气相色谱/质谱联用分析法对苯二氮䓬类药物的分析也是较常用的手段，由于挥发性较差，往往需要较高的柱温度，在分离方面，以地西泮为代表的三环类出峰较早，以三唑仑为代表的四环类出峰较晚，以三唑仑为最后。从质谱图的特征上看，这类药物都可以出现很强的分子离子峰或准分子离子峰，可用选择离子进行筛查，地西泮与三唑仑的质谱图如图 6-12。



地西泮(diazepam)



三唑仑(triazolam)

图 6-12　地西泮与三唑仑的质谱图

(4) 高效液相色谱法　此类药物有的品种热稳定性不好，在体内可以形成很多代谢物，如地西泮的代谢物奥沙西泮(oxazepam)，形成代谢物后极性增大，不适合气相色谱分析。高效液相色谱法可弥补气相色谱法的不足。由于此类药物的紫外吸收较强，紫外检测灵敏度较高。常用的色谱柱为反相 C_{18} 柱，甲醇或乙腈的磷酸混合溶液为流动相。

操作示例 6-3：

高效液相色谱法检材处理及操作示例：取 2mL 血液或血清检材，加入 20 μL 内标溶液及 2 mL 丙酮，充分搅拌混合后离心分离，取上清液在减压下挥干溶剂，残渣用 0.2 mol/L 硼酸缓冲溶液(pH 9)溶解，将溶解液通过 C_{18} 固相萃取柱，先用 1 mL 水冲洗，再用 1 mL 15% 甲醇水溶液冲洗，然后用甲醇将药物洗脱，洗脱液 50℃ 下在氮气流中吹干，残渣用 20 μL 甲醇溶解，取 10 μL 进样分析。色谱条件：色谱柱为 Kontrsorb RP(反相柱，相当于 C_{18} 键合相，25 cm×4.6 mm i. d.)，流动相为乙腈和 0.09 mol/L 磷酸钾(pH 2.3)的混合溶液，流速为 1.3 mL/min，二极管阵列检测器，检测波长为 190～430 nm。

> 几种常见苯二氮䓬类药物在反相液相色谱柱上的出峰顺序：
>
> 氯氮䓬→奥沙西泮→氟西泮→硝西泮→艾司唑仑→氯硝西泮→阿普唑仑→地西泮

第三节　吩噻嗪类药物

吩噻嗪类（phenothiazine）药物是一大类精神抑制药，具有镇静、镇痛和镇吐作用，通常用于治疗精神疾患，抑制由于其他疾病所引起的呕吐，也可用于增强麻醉、催眠和镇痛作用。但长期使用此类药物可产生依赖性，过量服用或滥用可造成中毒死亡。其中氯丙嗪（chlorpromazine）是典型代表药物。

一、结构与特性

本类药物的母体结构为吩噻嗪环，又称作苯骈噻嗪或硫氮杂蒽。母体结构见图 6-13。

图 6-13　吩噻嗪类的母体结构

泰尔登（chlorprothixene）环上无氮原子，作用与吩噻嗪类药物类似，也归于此类，部分药物取代基列于表 6-3 中。其中 R_1 为碱性侧链，R_2 为一些电负性较大的基团。碱性侧链的存在使本类药物都具有碱性。多数游离碱为油状液体或熔点较低的固体，通常制成盐类。游离碱难溶于水，可溶于乙醇和氯仿；盐酸盐多为白色至微黄色粉末，易溶于水，亦可溶于乙醇和氯仿，不溶于乙醚。无论是游离碱还是盐酸盐，此类药物都易被氧化，暴露在空气中或光照下，极易氧化分解，外观上表现为变色或颜色加深。因此，此类药物需避光密闭保存，也常常加入维生素 C、亚硫酸氢钠等抗氧化剂。

表 6-3　常见吩噻嗪类药物的结构

名　称	母体上取代基	
	R_1	R_2
异丙嗪（promethazine）	$-CH_2CH(CH_3)N(CH_3)_2$	$-H$
氯丙嗪（chlorpromazine）	$-(CH_2)_3N(CH_3)_2$	$-Cl$
奋乃静（perphenazine）	$-(CH_2)_3-N\quad N-(CH_2)_2OH$（哌嗪环）	$-Cl$
三氟拉嗪（trifluoperazine）	$-(CH_2)_3-N\quad N-CH_3$（哌嗪环）	$-CF_3$
氟奋乃静（fluphenazine）	$-(CH_2)_3-N\quad N-(CH_2)_2OH$（哌嗪环）	$-CF_3$

二、毒理作用

该类药物的主要作用是抑制中枢神经系统，大量服用造成急性中毒可出现暂时性兴奋，继而出现嗜睡、共济失调、肌肉僵直、痉挛、血压和体温下降、呼吸缓慢、瞳孔缩小等症状，最后因反射消失、休克窒息而死亡。吩噻嗪药物对人的致死量与不同个体的年龄、敏感性有关。致死血浓度约为 5 μg/mL。



三、检材处理

采取检材后应避光保存，尽快检验，以避免遇光氧化分解，检材可在碱性条件下用有机溶剂萃取。此类药物易与蛋白质结合，可用盐酸或三氯乙酸除蛋白质。新鲜血、尿、胃内容物及组织匀浆液等可用乙醚或氯仿直接萃取。腐败检材碱化后用乙醇浸提，蒸去乙醇后用乙醚或庚烷萃取，中性氧化铝吸附柱净化。检材以尿液为佳，还可采集血液、胃内容物、洗胃液和其他组织。

四、检测方法

1. 化学方法　吩噻嗪类药物易被氧化成亚砜类、醌类(图 6-14)而显色，还可与某些金属离子形成配合物显色。这些反应可作为预试验或类别试验。

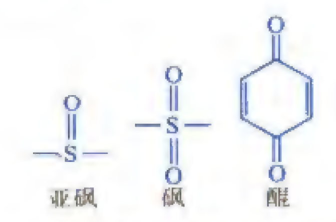


图 6-14　吩噻嗪类药物氧化后的基团结构

(1) FPN 试剂　FPN 试剂是多种氧化剂与配合剂的混合物。根据反应颜色种类、深浅、显色快慢等现象可鉴别吩噻嗪类药物的不同品种。其中，氯丙嗪、异丙嗪显红紫色，检测限为 3～5 μg；泰尔登、三氟拉嗪显橙红色，检测限 100～200 μg。

> FPN 试剂的配制：5mL 5%(W/V) $FeCl_3$ 溶液加 45 mL 20%(W/W)$HClO_4$，再加 50 mL 50%(W/W)HNO_3 混合。

(2) 氯化钯试剂　试剂为 0.1%氯化钯的盐酸溶液。在 pH 2.0 缓冲溶液中，试剂与吩噻嗪类药物形成有色配合物。此反应是 Pd^{2+} 与吩噻嗪环上未被氧化的硫原子生成配位化合物，因此，亚砜或砜类均不显色。此反应的特点是可选择性地检测未被氧化的吩噻嗪类药物。氯丙嗪、奋乃静显橙红色，检测限 1 pg；异丙嗪显紫色，检测限 1 pg；三氟拉嗪显橙黄色，检测限 2 pg，泰尔登显浅黄色，检测限 5 pg。

2. 光谱法

(1) 紫外分光光度法　吩噻嗪类药物的紫外吸收特征相似，氧化产物及体内代谢产物也有紫外吸收，亚砜、砜类的吸收峰发生红移，可出现 4 个吸收峰。因此，检材经处理后直接测得的紫外吸收光谱通常是各种混合物的光谱。可将原药和代谢物全部氧化为亚砜，按亚砜的紫外吸收光谱进行对照鉴别。氯丙嗪亚砜产物在 0.1 mol/L 的 H_2SO_4 溶液中，有 240、275、300、345 nm 四个吸收峰，其中 240 nm 的吸收最大；异丙嗪亚砜产物在 0.1 mol/L H_2SO_4 溶液中，有 235、270、295、340 nm 四个吸收峰，以 235 nm 的吸收最大。

> 操作示例 6-4：
>
> 制备氯丙嗪亚砜的标准紫外吸收光谱操作条件示例：取氯丙嗪 200 μg，溶于 50 mL 水中，加 FPN 试剂 5 mL，溶液即变红，加 60%浓碱碱化放冷。50、30 mL 乙醚提取两次。无水硫酸钠脱水，0.05 mol/L 硫酸 10 mL 提取两次，在 200～390 nm 处测紫外吸收。检材中提取净化后的样品转溶于 0.05 mol/L 硫酸溶液中，用 FPN 试剂氧化，操作同上。

(2) 荧光分光光度法　本类药物用过氧化氢氧化后可产生具有荧光的物质，荧光强

> 血液中氯丙嗪、三氟拉嗪药物荧光法操作条件示例：检材用氨水碱化后，用庚烷-异戊醇(98.3∶1.7)混合溶剂萃取，醋酸溶液反提，反提液用 30%过氧化氢氧化。氯丙嗪的激发波长 340 nm、检测波长 380 nm；三氟拉嗪激发波长 350 nm、检测波长 405 nm。检测限 0.5 μg/mL。

度与浓度呈线性关系，可做定量分析。

3. 色谱法

（1）薄层色谱法　通常用硅胶G薄层板，可选择环己烷-二乙胺（9∶1）作展开剂，先于紫外灯下254 nm观察荧光，再喷2∶3硫酸显色，烘干后可再于紫外灯下观察荧光。在展开剂中加入碱性试剂后 R_f 值增大。也可用氯化钯等氧化试剂显色。

R_f 值从小到大的顺序：奋乃静→三氟拉嗪→异丙嗪→氯丙嗪→泰尔登

由于吩噻嗪类药物极易氧化，检验陈旧药物或检材时常出现多个斑点，不便与对照品比较。可将对照品与被检物全部氧化为亚砜，再展开进行鉴别。

操作示例6-5：

吩噻嗪类药物氧化后薄层色谱法：标准品和样品同时点在原点上，用毛细管加1∶1硝酸2～3滴将点样点盖住。此时斑点变红，将水分吹干，红色褪去，复加硝酸至不显色。展开后用2∶3硫酸显色。20 min后观察斑点。通常亚砜产物比原药的 R_f 值减少一半以上。

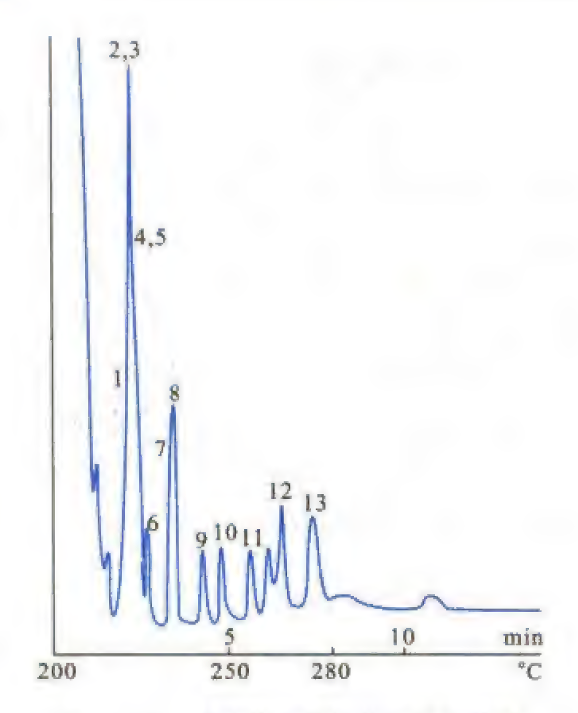


图6-15　吩噻嗪类药物的气相色谱图

1. 三氟丙嗪（triflupromazine）；2. 异西喷地（isothipendyl）；3. 异丙嗪（promethazine）；4. 异丁嗪（trimeprazine）；5. 普马嗪（promazine）；6. 普鲁吩胺（ethopropazine）；7. 氯丙嗪（chlorpromazine）；8. 甲氧异丙嗪（levomepromazine）；9. 三氟拉嗪（trifluoperazine）；10. 甲哌丙嗪（perazine）；11. 甲哌氯丙嗪（prochlorperazine）；12. 甲硫达嗪（thioridazine）；13. 硫乙拉嗪（thiethylperazine）

（2）气相色谱法　SPB-1毛细管柱（15 m×0.53 mm i.d. 膜厚1.5 μm），FID检测器，初始柱温为200℃（1 min），经程序升温至280℃（10℃/min），进样口300℃，检测器300℃，载气为氮气（20 mL/min）。20 μg/mL标样，进样1 μL。13种吩噻嗪类药物气相色谱图见图6-15。

（3）气相色谱/质谱联用分析法　气相色谱/质谱联用分析法对吩噻嗪类药物的分析也是一个比较常用的手段，由于挥发性较差，往往需要较高的柱温度，从质谱图的特征上看，这类药物很难出现分子离子峰或分子离子峰很弱，这一点与苯二氮䓬类药物形成鲜明对比。吩噻嗪类药物往往是脱去三环氮上的侧链后所形成的碎片离子具有很强丰度。如氯丙嗪（chlorpromazine）的 m/z 233和异丙嗪（promethazine）m/z 199都是三环N上的侧链断掉后的碎片离子。两质谱图见图6-16。

（4）高效液相色谱法　色谱柱可采用 C_{18} 键合相硅胶色谱柱，用紫外检测器检测，波长254 nm，流动相可用10 mmol/L高氯酸缓冲溶液（1 mol/L的高氯酸10 mL中加入1.22 g高氯酸钠后，用蒸馏水稀释至1 000 mL）和乙腈（7∶3）混合液。检材可按如下方法处理：液体检材0.1 mL，加0.2 mL乙腈，搅拌后离心，取上清液，过滤，取滤液10 μL进样。在上述色谱条件下，常见吩噻嗪类药物都可以得到很好的分离，可进行定性或定量分析。

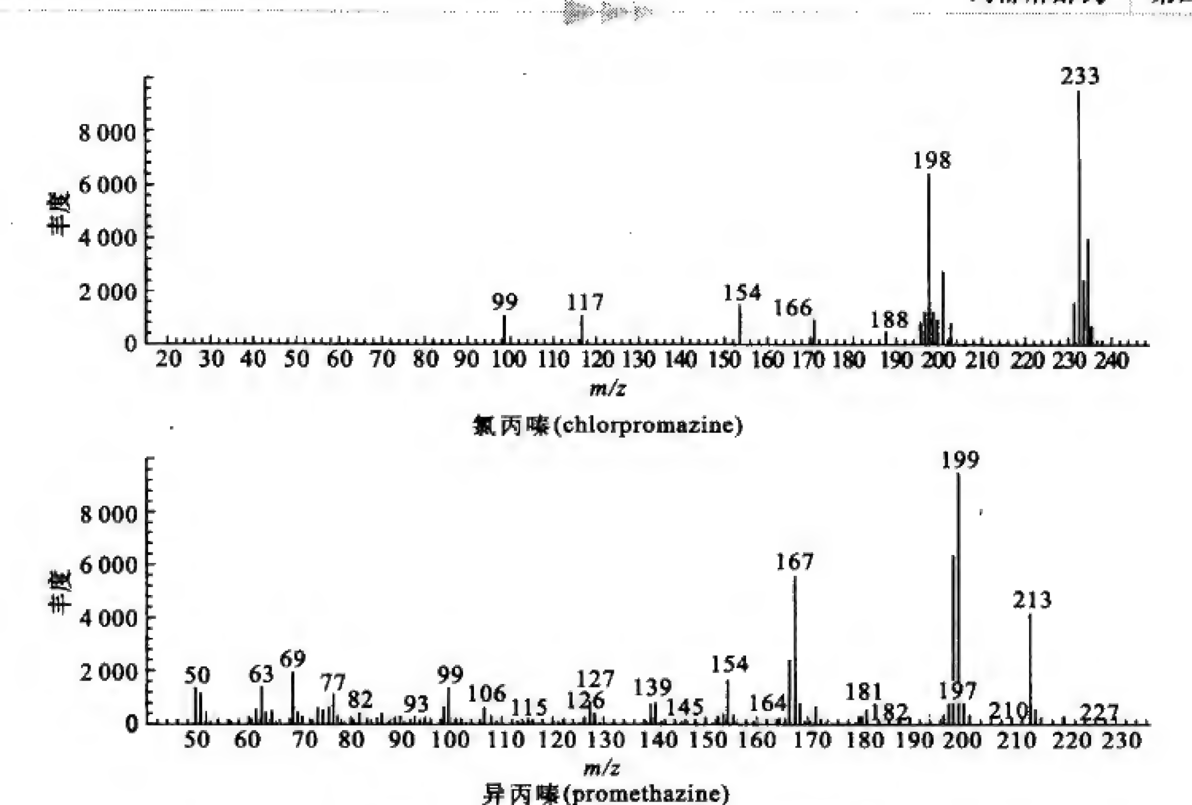


图 6－16　吩噻嗪类代表药物的质谱图

第四节　局部麻醉药

一、结构与特性

局部麻醉药的种类很多，目前在临床上应用的局部麻醉药主要是以普鲁卡因(procaine)(图 6－17)为代表的酯类和以利多卡因(lidocaine)(图 6－18)为代表的酰胺类。

图 6－17　普鲁卡因(procaine)

图 6－18　利多卡因(lidocaine)

盐酸普鲁卡因(procaine hydrochloride)为白色结晶或结晶性粉末，熔点为 154～157℃，无臭，味微苦，继而有麻木感，在水中易溶，在乙醇中略溶，在氯仿中微溶，在乙醚中几乎不溶。

盐酸利多卡因(lidocaine hydrochloride)为白色结晶性粉末，熔点为 75～79℃，无臭，味苦，继而有麻木感，在水或乙醇中易溶，在氯仿中溶解，在乙醚中不溶。

普鲁卡因的结构中含有芳伯氨基，可以发生重氮化偶合反应；还能与芳香醛反应生成 Schiff 碱；脂烃胺侧链的 N 为叔胺结构，显碱性，能够与酸成盐，也能与一些生物碱沉淀试剂反应生成沉淀；酯键容易发生水解。

利多卡因酰胺基的两个邻位有甲基，由于空间位阻的影响，酰胺键较难水解，盐的水溶液相对比较稳定。利多卡因的脂烃胺侧链的另一个 N 为叔胺结构，显碱性，能与酸成盐，也能和一些生物碱沉淀试剂反应生成沉淀。盐酸利多卡因的酰胺基氮原子可以和重

金属离子结合，生成有颜色的配位化合物沉淀。

二、毒理作用

局部麻醉药引起的中毒可能有几个原因：个别人由于特殊体质，普通的皮下注射也可能造成休克死亡；皮下注射时误注入血管内；超量使用致使中毒乃至死亡。如果急速静脉注射或者大量给局部麻醉药，可导致昏睡、虚脱和痉挛等中毒症状，进而引起呼吸麻痹和心跳骤停而死亡。手术硬膜外麻醉刺穿硬膜，药物进入硬膜下隙是利多卡因麻醉致死的常见原因。

普鲁卡因等酯类麻醉药进入体内迅速水解。例如，给予普鲁卡因 10 min 后即有 40%以上发生水解，生成对氨基苯甲酸，水解主要发生在血浆中。静脉注射普鲁卡因后，药物原形 24 h 排出量不足 2%，大部分都已代谢。利多卡因的酰胺键较稳定水解比较慢，能够保持更多的药物原形。利多卡因 24 h药物原形排出量约达 12%。

三、检材处理

对于普鲁卡因为代表的酯类药物要注意水解产物的检验。注意收集各种检材，如剩余药液、药瓶、注射器；要收集血液、脑脊髓液以及注射部位的肌肉等。对于盐类药液，可加 20%碳酸钠调至碱性，用乙醚萃取，脱水后挥去乙醚，用乙醇溶解残渣待测。

四、检测方法

1. 化学方法

(1) 苦味酸盐结晶反应　普鲁卡因、利多卡因、布比卡因等都有脂肪叔胺结构，均能与苦味酸形成黄色结晶性沉淀，样品较纯，量较大时可以根据熔点鉴别。

> 普鲁卡因熔点 148～152℃；利多卡因熔点为 227～232℃；布比卡因熔点 194℃。

(2) 重氮化偶合反应　普鲁卡因苯环上有伯氨基，在盐酸溶液中和亚硝酸钠发生重氮化反应，生成的重氮盐可与碱性 β-萘酚偶合生成偶氮染料而显色。将盐酸普鲁卡因水溶液用盐酸酸化，在冰浴中加入亚硝酸钠溶液，然后再加入碱性 β-萘酚试液即可生成偶氮化合物而显红色。

(3) 与重金属离子结合显色　利多卡因和布比卡因酰胺基上的氮原子可以和铜离子或钴离子生成有色配合物沉淀，此沉淀可溶解于氯仿等有机溶剂。例如，盐酸利多卡因在碳酸钠溶液中与硫酸铜生成蓝紫色配位化合物，转入氯仿中显黄色。盐酸利多卡因在酸性溶液中与氯化钴溶液反应，生成亮绿色细小钴盐沉淀。

2. 紫外分光光度法　普鲁卡因、利多卡因等都有苯环结构，在紫外区有特征吸收。可在相同条件下用对照品鉴别。

> 操作示例 6-6：
>
> 光谱鉴别：盐酸普鲁卡因用 0.02 mol/NaOH 水溶液配制成 20 μg/mL 溶液，于 230～350 nm 处扫描，最大吸收峰 λ_{max} 275 nm；如用纯水配制成 5%的水溶液在相同波长范围扫描，λ_{max} 出现在 280 nm。后者用于片剂和注射液。

3. 色谱法

(1) 薄层色谱法　薄层板吸附剂用硅胶 G；展开剂可用氯仿-丙酮-二乙胺(5∶4∶1)；环己烷-二乙胺(9∶1)；氯仿-甲醇(9∶1)等。显色剂可用碘铂酸钾或碘化铋钾等。由于盐酸普鲁卡因容易分解，在检不出原药的情况下，必要时可对其分解产物进行检验。通常在 TLC 板上可同时出现原药和分解产物的 2～3 个斑点。

操作示例 6-7：

盐酸普鲁卡因及其分解产物的检例：薄层板吸附剂用硅胶 H；展开剂可用苯-冰醋酸-丙酮-甲醇(14：1：1：4)，展开后晾干，用对二甲氨基苯甲醛溶液(2%对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液 100 mL 加冰醋酸 5 mL 制成)喷雾显色。没有分解时只出现一个盐酸普鲁卡因斑点；分解时可能出现盐酸普鲁卡因及其分解产物对氨基苯甲酸的斑点；如果出现第三个斑点则为苯胺。可逐一用已知物对照。

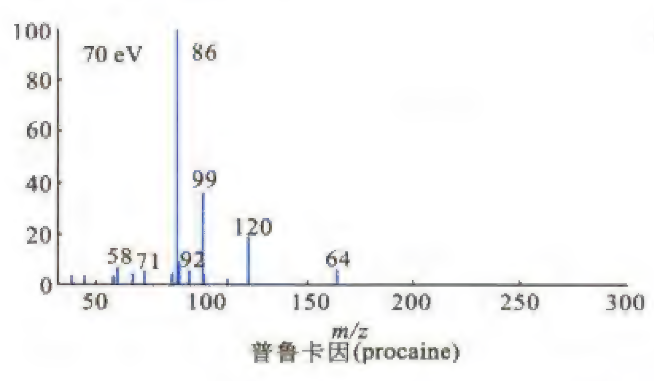
(2) 气相色谱法　固定相可用 SE-30 等非极性固定液，起始柱温不宜过高。普鲁卡因、利多卡因等各种局部麻醉药均可分开。

(3) 气相色谱/质谱联用法　此类化合物用正离子电离源一般不出现分子离子峰或丰度很低，质谱图见 6-19。

操作示例 6-8：

生物样品中局麻药的气相色谱法检验示例：1 mL 脑脊液或全血、尿等加 9 mL 水，加入 Sep-Pak C_{18} 小柱，用 10 mL 水洗，4 mL 氯仿-甲醇(9：1)混合液洗脱，氮气吹干后，用适当溶剂溶解，进样1 μL。气相色谱条件是：大口径毛细管柱 SPB-1 (15 m×0.53 mm i.d. 膜厚 1.5 μm)，FID 检测器，初始柱温为 120℃(1 min)，经程序升温至 280℃(10℃/min)，进样口 300℃，检测器 300℃，载气为氦气(20 mL/min)。20 μg/mL 标样。

局部麻醉药在非极性色谱柱中的出峰顺序：氨基苯甲酸乙酯(ethylam inobenzoate)→丙胺卡因(prilocaine)→利多卡因(lidocaine)→普鲁卡因(procaine)→甲哌卡因(mepivacaine)→丁卡因(tetracaine)→布吡卡因(bupivacaine)→丁氧普鲁卡因(benoxinate)→狄布卡因(dibucaine)



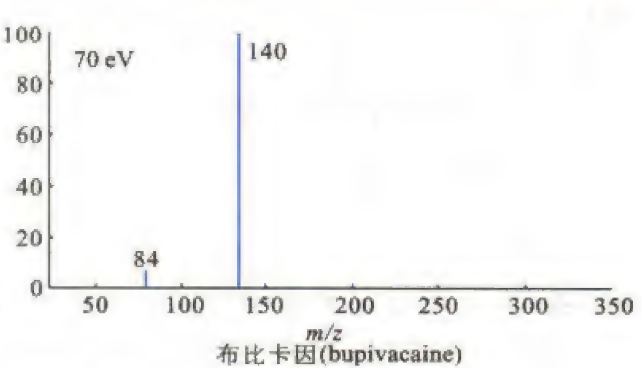


图 6-19　局部麻醉药代表物的质谱图

第五节　抗生素

抗生素是微生物代谢产物或半合成的类似物，主要来源是生物发酵，也可通过化学全合成和半合成方法制得。抗生素种类繁多，结构复杂，因其利润高且需求量大，因此最容易成为不法分子生产假冒伪劣产品的对象，导致因质量问题而引起医疗纠纷。

一、结构与特性

与法医毒物分析密切相关的抗生素主要是β-内酰胺类抗生素。其中包括青霉素类与头孢类，青霉素类与头孢类都有游离羧基和酰胺侧链。氢化噻唑环或氢化噻嗪

环与β-内酰胺合并的杂环，分别构成两者的母核。青霉素族的母核称为6-氨基青霉烷酸(6-aminopenicillanic acid，6-APA)；头孢菌素族的母核称为7-氨基头孢烷酸(7-aminocephalosporanic acid，7-ACA)；这两大类都是由不同的酰基侧链构成的，规律性很强。两类药物的母体结构如图6-20。

侧链 6-APA COOH
青霉素族
侧链 6-ACA CH_2R_1 COOH
头孢菌素族

图6-20 β-内酰胺抗生素的基本结构

由于具有游离的羧基，都具有相当强的酸性，所以注射液都是碱金属盐，遇酸可析出白色沉淀。从母核上看，头孢菌素族具有一定的共轭体系，紫外吸收行为比青霉素族好。另外紫外吸收行为与侧链是否含有共轭体系关系很大。β-内酰胺环是分子结构中最不稳定的部分，与含水量和纯度有很大关系，干燥条件下比较稳定，室温条件下密封保存可贮存3年以上，但水溶液非常不稳定，酸、碱、酶、金属离子等都可导致结构破坏。

二、检材处理

由于人们对青霉素类的过敏反应已经有足够认识，而忽视了头孢类偶尔出现的过敏现象，因此目前因头孢类抗生素的过敏反应引起的医疗纠纷反而比较多见。涉及抗生素分析的检材采取应采取生物检材与体外检材并举的原则，生物检材以血、局部肌肉为宜。体外检材是与案情有关的医疗用品，包括药品、药液、点滴液、输液管、针头等。

三、检验方法

大体分为理化分析法和生物测定法两类。

(一) 理化检测方法

苯唑西林钠水解产物的测定方法示例：用醋酸-醋酸钠缓冲液(pH 3.8)制成每1 mL中含有50 μg的标准溶液，量取10 mL，在水浴中加热30 min，立即冷却，以未加热的缓冲液作空白，检测波长为339 nm处的最大吸收。其吸收度约为0.6。取待测样品按同法分析，计算含量。

1. 显色反应

(1) 羟肟酸铁反应　青霉素及头孢菌素在碱性中与羟胺作用，β-内酰胺环破裂生成羟肟酸，在稀酸中与高铁离子呈色，可依据不同颜色进行鉴别。

(2) 硫酸-甲醛试验　如氨苄西林的鉴别试验示例：取样品2 mg，置试管中，加0.05 mL的水湿润，加2 mL硫酸-甲醛试液，混合，置水浴中加热1 min，呈暗黄色。青霉素钾(钠)呈红棕色。

2. 薄层色谱法　此类药物可以采用TLC法，用标准品比较，由于抗生素的降解产物和杂质通常较多，要求主斑点的R_f相同。头孢氨苄(cefalexin)、头孢羟氨苄(cefadroxil)、头孢拉定(cefradine)、头孢克洛(cefaclor)等可用茚三酮显色；阿莫西林(amoxicillin)、氨苄西林(ampicillin)常采用碱性酒石酸铜显色。

3. 紫外吸收光谱　将样品配成适当浓度的溶液，根据最大吸收波长和吸光度进行鉴定。也可将样品在一定条件下水解，测定水解产物的最大吸收波长。

4. 高效液相色谱法　这是生物样品中抗生素分析的常用方法。

操作示例 6－9：

高效液相色谱法测定人血浆中阿莫西林浓度示例：色谱条件：色谱柱为 YWG（反相柱，相当于 C_{18} 键合相，25 cm×4.6 mm×10 μm），流动相为磷酸盐缓冲液（pH 7.2）－甲醇（85∶15），流速为 1.0 mL/min，检测波长为 229 nm。取 20 μL 进样分析。取血浆 200 μL 置 1 mL 塑料离心管中，加入 4 μL 内标溶液（1.0 mg/mL 替硝唑溶液）再加入 0.63 mol/L $HClO_4$ 溶液 200 μL，充分搅拌混合后离心分离，取上清液进样。检测限 30 ng/mL。色谱图如图 6－21 所示。

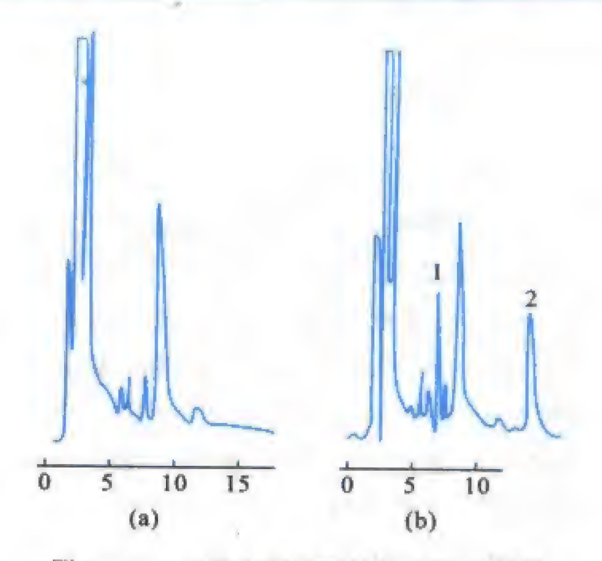


图 6－21　血浆中阿莫西林的 HPLC 图谱

a. 空白血浆；b. 口服 500 mg 阿莫西林片剂后的血浆

1. 阿莫西林；2. 内标

（二）生物检测法

其测定原理基于抗生素对微生物的抑制作用。如果检材中含有抗生素，则加入菌种（嗜热链球菌）经培育 2.5～3 h 后，加入 TTC 指示剂（三苯基四氮唑）不发生还原反应，所以样品呈无色状态；如果样品中不含抗生素，则样品呈红色，这样实验后样品颜色不变的为阳性，样品染成红色的为阴性。此方法要求操作人员具有一定的微生物专业知识且实验过程中菌液的制备、水浴控制等都要求严格遵守操作规程，否则易出现假阳性或出现检验结果的不稳定性。

1. TTC 法　TTC 法测定青霉素的灵敏度为 4×10^{-9}；链霉素 500×10^{-9}；庆大霉素 400×10^{-9}；卡那霉素 $5\ 000\times10^{-9}$。

TTC 法的具体操作步骤：

a. 菌液制备：将单菌种（嗜热链球菌）以脱脂乳为培养基，在 36℃±1℃ 培养箱中培养 15 h 后，再以脱脂乳以 1∶1 稀释待用。

b. 取待检样液 9 mL，在 80℃ 水浴加热 5 min 后冷却到 37℃ 以下，加活菌液 1 mL，在 36℃±1℃ 水浴 2 h，加入 4% 的 TTC 指示剂 0.3 mL，36℃±1℃ 水浴培养 30 min。

c. 若样液颜色不变为阳性，呈红色为阴性；若呈阳性的样液，再置于水浴中培养 30 min，不显色的为阳性，呈红色为阴性。

2. Delvotest 法（戴尔沃检测法）　该方法也是生物测定法，其试剂是由荷兰 DSM 公司生产并由 AOAC 认证。原理是利用微生物－嗜热芽孢菌在 64℃ 条件下培养 2.5～3 h 后会产酸，酸引起指示剂 BCP（溴甲酚紫）变为黄色；若样品中不含抗生素，培养后样品呈黄色，如样品中含有抗生素，嗜热芽孢菌生长受到抑制而无法产酸，指示剂将不变色。

Delvotest 具有广谱性，可检测到 β－内酰胺类磺胺类、四环素类、大环内酯类、氨基糖苷类、氯霉素等，其中对青霉素和磺胺类抗生素特别灵敏。其灵敏度为：青霉素 3×10^{-9}；链霉素 300×10^{-9}；庆大霉素 $400\times$

10^{-9}；卡那霉素 $2\,500\times10^{-9}$。应充分注意出现假阳性，应若干种方法并用。

Delvotest 法的操作步骤：

a. 以无菌操作将一片营养药片夹放入小试管内。

b. 用微量移液管将 0.1 mL 样品注入小试管内。

c. 把小试管放入已预热至 64℃的水浴箱或恒温器中培养。

d. 定时 3 h 取出观察颜色变化。如果底部 2/3 的固体介质是黄色，则为阴性，如果底部 2/3 的固体介质是紫色，则为阳性。

第六节　氯胺酮

氯胺酮(ketamine)属麻醉镇静剂，具有一定精神依赖性，有致幻作用。氯胺酮毒品通常为白色粉末状，也称为“K”粉。吸食 70 mg 会导致中毒，200 mg 会产生幻觉，感受到温和而幻彩的世界，吸食 500 mg 将出现濒死状态。氯胺酮一般与海洛因、大麻、摇头丸等一起使用，可以相互作用产生“协同”效应。有关毒品的内容请参阅其他章节。

一、结构与特性

氯胺酮的化学名为 2-(2-氯苯基)-2-(甲氨基)环己酮，结构如图 6-22。其盐酸盐(ketamine hydrochloride)为白色结晶性粉末，无臭，在水中易溶，溶于热乙醇中，在乙醚或苯中不溶，熔点为 259～263℃，熔融时同时分解。临床用制剂通常为注射液，常见的规格为 100 mg(2 mL)，100 mg(10 mL)，200 mg(20 mL)。作为毒品出现的有氯胺酮溶液或粉末。

图 6-22　氯胺酮

二、检材处理

检验氯胺酮的检材与其他麻醉剂及苯丙胺类毒品的情况相似。有体外检材，如药粉、药液等；也有体内检材，如血液和尿液等。氯胺酮属弱碱性药物，从生物样品中提取分离可参照其他碱性药物的提取分离方法。

三、检测方法

（一）熔点测定

对于粉末药物可以精制后测定原药的熔点，游离氯胺酮的熔点为 91～94℃，盐酸氯胺酮熔点亦为 91～94℃。

（二）光谱法

氯胺酮有苯环结构，有紫外吸收，最大吸收峰位于 269 nm 与 277 nm 处。

（三）色谱法

操作示例 6-10：

生物样品中氯胺酮液相微萃取气相色谱法：取检液(尿或血浆)4 mL，加 4 μL 内标液(哌替啶 1 μg/mL 浓度)，再加入 0.1 mL 1 M NaOH 至 6 mL 体积玻璃瓶中，在小瓶中放入磁性转子，于室温下在磁力搅拌器上搅拌，同时插入一端封口的聚偏氟乙烯中空纤维管(直径 0.6 mm×30 mm)，管内装有甲苯 4 μL。15 min 后抽取甲苯 1 μL 进样。

气相色谱条件：毛细管柱 HP-1 (25 m×0.32 mm×0.52 μm)，FID 检测器，初始柱温为 100℃(1 min)，经程序升温至 270℃(25℃/min)，进样口 260℃，检测器 260℃，载气为氮气(22 mL/min)。

生物检材可通过液-液萃取法或固相萃取法以及液相微萃取法提取。气相色谱可用非极性固定相填充柱或毛细管柱。高效液相色谱柱可用含氰基的固定相，流动相用乙腈-0.005 mol/L磷酸(3∶2,pH 5.5)，在215 nm处进行紫外检测。

小结

本章主要介绍中枢神经系统药物，如巴比妥类、吩噻嗪类、苯二氮䓬类安眠镇静药；另包括外周神经系统药物中的局部麻醉药，代表药物是利多卡因和普鲁卡因；此外，还介绍了易引起过敏反应的抗生素，主要是β-内酰胺类抗生素。这些药物若使用过量或使用不当会导致中毒甚至死亡。其中麻醉药和抗生素药物等使用不当造成患者中毒和死亡的医疗纠纷事件近年来呈上升趋势。这些药物往往不会对机体产生明显损伤，亦无特征性的尸检所见，所以，毒物分析是主要的鉴定手段。在取检材时，体内检材以血最为重要，同时要注意体外检材的采取。毒物分析时要定量血中浓度，以确定是否达到中毒量或致死量。

Summary

In this chapter, the concept of synthetic medicine primarily indicates those chemical synthetic medicine or semisynthetic medicine. and those haven't been abused, but frequently appeared in the incidents of empoison, the miss take, suicide and medical dispute. This chapter lays stress on central nervous system drugs, including sedative-hypnotics(barbitals, phenothiazine and benzodiazepines), peripheral nervous system drugs(local anesthetics i. e. lidocaine and procaine) and β-Lactam antibiotics that easily cause allergic reaction. If the drugs were used misapplication and overdose, it would result in poisoning and even death. In recent years, medical dispute shows an upward trend in the misapplication with anesthetic and antibiotics. Those drugs can not cause damage to body, the autopsy finding is atypical, so drug analysis becomes primary identification method. Blood sample is important in body specimen. Simultaneously, vitro specimen should also be noted. Blood concentration should be quantified in order to define poisoning dose or lethal dose.

思考题

一、解释下列名词和术语

1. 铜-吡啶试验　2. 芳伯胺试验　3. FPN试剂　4. 碱性钴盐试验

二、回答下列问题：

1. 与法医毒物分析关系密切的常见医用药毒物分为几类？各有哪些理化特点？
2. 巴比妥类药物的紫外吸收光谱随溶液pH的改变发生怎样的变化？
3. 从生物检材中萃取某些苯二氮䓬类药物时，必须在弱碱性(pH 10左右)条件下进行。如在强碱性条件下萃取，回收率很低，为什么？
4. 某生物检材中可能含有巴比妥和苯二氮䓬类两类药毒物，请设计一实验将两类药毒物分开。
5. 抗生素药物本身具有很多杂质，试论这些杂质在法医毒物分析中的作用。

6. 有一未知注射液，为透明液体，经敞口放置过夜，发现变为黄色，几天后发现注射液变为黑褐色。请锁定该注射液为哪一类安眠镇静药？

7. 硫喷妥的薄层色谱分析时为什么经常出现两个斑点？

8. 吩噻嗪类药物的化学显色检验中是如何巧妙地利用此类药物容易氧化的性质的？

9. 吩噻嗪类药物的薄层色谱分析为什么常在展开剂中加入少量碱性物质？

（中国医科大学法医学院　刘俊亭）

第七章 杀虫剂及除草剂

要点	
概述	杀虫剂(insecticide)是一类应用广泛、用量较大的农药。主要有化学杀虫剂、植物杀虫剂、光活化杀虫剂等。常易引起中毒而导致伤害和死亡的杀虫剂为有机化学杀虫剂，如有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、杀虫双、杀虫脒等。杀虫剂和除草剂入体途径主要是经消化道、皮肤黏膜吸收、呼吸道吸入，也有通过静脉注射等胃肠外途径谋害的。杀虫剂具有特殊气味和中毒特征，案情调查应注意中毒者的中毒症状。涉及混配杀虫剂中毒的案件时，须注意选择合理的检材处理方法和扩大检测范围，进行毒物筛选。绝大多数酯类有机杀虫剂化学性质多不稳定，碱性条件下迅速水解，温度、水分、金属离子催化等皆影响其稳定性。百草枯和五氯酚钠是毒性较大的有机合成除草剂，其吸收速度和排泄速度均较快。分析方法可采用化学显色法、薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法及联用技术等。在体内原药检测较困难时，需对其代谢物进行检测。
检材采取要求及处理原则	对疑似杀虫剂中毒案件进行毒物分析时，根据杀虫剂入体途径的不同，一般可采取剩余食物、呕吐物、洗胃液、现场可疑容器、胃内容物、血液、肝脏、尿液、胆汁等检材。百草枯中毒致死要特别注意提取肺作为检材。有些市售商品的同一药物名称杂乱，为消除地区、产地差异，在接受检验委托时，应同时取送与案情相关联的当地杀虫剂作为对照样品。检材应及时封存和送检。
有机磷杀虫剂	有机磷杀虫剂根据结构可分为磷酸酯类、硫代磷酸酯类、焦磷酸酯及硫代焦磷酸酯类、磷酰胺及硫代磷酰胺类。由于其具有毒性较大，结构复杂，化学性质多不稳定等特点，故酯类有机杀虫剂在碱性条件下迅速水解，有些在酸性介质中也能水解。又因其蒸气压较低、大多不耐热，具有一定极性，样品提取时要根据杀虫剂极性的强弱和检材中脂肪、蛋白质、色素等杂质含量的高低选择合适的溶剂。检材提取和分析方法选择时应避免其热分解。提取方法有直接提取法、液-液萃取法、固相萃取法和固相微萃取法。
氨基甲酸酯类杀虫剂	氨基甲酸酯类杀虫剂根据结构可分为萘基氨基甲酸酯类、苯基氨基甲酸酯类、杂环二甲基氨基甲酸酯类、杂环甲基氨基甲酸酯类、肟类等。该类杀虫剂是极性、新型含氮杀虫剂，在体内不蓄积。多数氨基甲酸酯一级水解为酚或肟及甲基氨基甲酸，酚和肟与硫酸或葡萄糖醛酸等以结合型随尿排出，甲基氨基甲酸易水解为二氧化碳和甲胺。提取方法有直接提取法、液-液萃取法、固相萃取法和酸水解法。

拟除虫菊酯类杀虫剂	拟除虫菊酯类杀虫剂大多含有卤素、α-氰基、苯醚和环丙烷结构，毒性较小，能与多种杀虫剂混合使用，中毒案例多是含有该类杀虫剂的混配杀虫剂中毒。体内代谢、排泄快。提取方法有直接提取法、液-液萃取法、固相萃取法。分子结构中因含有卤素、氰基等电负性强的原子或基团，GC分析时用^{63}Ni-ECD检测器的灵敏度高。
杀虫双和杀虫脒	杀虫双是一种类似沙蚕毒素的人工合成杀虫剂，极易溶于水。在体内吸收、代谢转化和排泄都较快，主要代谢物为沙蚕毒素和二甲基沙蚕毒素。检材中杀虫双用二氯甲烷-异丙醇(9∶1)提取，用化学分析法、薄层色谱法或气相色谱法分析。杀虫脒为氯苯脒盐酸盐，是一种有机氮杀虫及杀螨剂，在弱酸、弱碱中易水解破坏，检材中杀虫脒经碱化后析出的氯苯脒用氯仿或石油醚提取，用化学分析法、薄层色谱法或气相色谱法分析。
百草枯	百草枯极性强，属水溶性化合物，其二氯化物和二硫酸甲酯盐在酸性条件下稳定，遇碱分解。结构中含有离子对，在固相萃取和高效液相色谱法分析时，加入适当的离子对试剂可提高萃取效率和检测灵敏度。
五氯酚钠	五氯酚钠具有除草、木材防腐和灭杀钉螺作用，对鱼类的毒性很强。人、畜五氯酚钠急性中毒起病急骤，显著病症为体温上升可高达40℃以上。五氯酚钠易溶于水，水溶液呈碱性，水溶液加酸即析出五氯酚。体内检材分析主要是检测五氯酚。检材加酸后用有机溶剂萃取或水蒸汽蒸馏法分离提取五氯酚。
相关主题词	法医毒物分析　法医毒理学　分析化学　农药　色谱法

第一节　杀虫剂

杀虫剂(insecticide)是一类应用广、用量较大的农药。传统的杀虫剂主要是化学杀虫剂，如有机合成杀虫剂、无机杀虫剂等。但由于化学杀虫剂本身所固有的缺点和人们对其的不合理使用，使其化学反应产生了“3R”问题(即残留 remain、抗性 resistance 和再猖獗 rampancy)，其毒性不仅给人类和牲畜带来了一定危害，而且还造成了严重的环境污染。近几年一些绿色杀虫剂应运而生，如用于防治害虫的植物体、植物提取物及其改性物质的植物杀虫剂：雷公藤素、苦皮藤素、万寿藤素等；利用光和氧的作用提高杀虫效果的光活化杀虫剂：呋喃香豆素、呋喃喹啉碱等。本节主要讨论几种毒性较大的有机合成杀虫剂，如有机磷类、氨基甲酸酯类、拟除虫菊酯类、杀虫双、杀虫脒等。

为了兼治不同虫害或利用药物相互间的增效作用，这几类杀虫剂经常混用(除碱性农药外)，厂商常将两种或两种以上不同种类杀虫剂混合配制成混配剂型。不同组合混配杀虫剂的品种较多，如“溴马乳油”是由溴氰菊酯和马拉硫磷混配而成、“甲威氯乳油”是由三种不同种类的杀虫剂甲基对硫磷、灭多威、氯氰菊酯混配而成。因此涉及混配杀虫剂中

毒的案件时，须注意选择合理的检材处理方法和扩大检测范围，进行毒物筛选，以免在检出一种杀虫剂后漏检其他成分。分析方法可采用化学显色法、薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法及联用技术等。原药在体内检测较困难时，需对代谢物进行检测。

一、有机磷杀虫剂

有机磷杀虫剂(organophosphorus insecticide)为有机磷酸酯类化合物。1932 年 Lange 与 Kruger 首先在柏林大学化学研究所发现了磷酸酯的生物活性，并描述了氨基磷酸酯对人体的毒性。其后德国拜耳(Bayer)公司的化学家格哈德·施罗德(G·Schrader)在寻找烟碱的替代物时，发现了有机磷的杀虫特性。1944 年施罗德发明了对硫磷，1949 年美国 Dupont 公司发明苯硫磷(伊皮恩，EPN)，1949 年施罗德发现内吸磷(1059)、甲基内吸磷，1950 年美国 ACC 公司开发出马拉硫磷(4049)，1952 年瑞士一公司推出二嗪农，1954 年拜耳公司又推出敌百虫，1958 年施罗德等发现倍硫磷(百治屠)，乐果是由美国 ACC 公司和意大利联合开发的。

有机磷杀虫剂是一类杀虫效力强、对植物药害较小的人工合成有机磷酸酯类化合物，因适用于不同虫害的品种多，残留期短，目前仍是我国广泛使用的一类杀虫剂。世界上常用的有机磷杀虫剂有 40 多种。有机磷杀虫剂中毒较多的是敌敌畏、对硫磷、乐果、甲拌磷、甲胺磷等。

有机磷杀虫剂是以磷酸酯或硫代磷酸酯为基本骨架的一系列有机化合物。

化学结构通式为：

$$(RO)_2P(=O(S))\text{—}X(OX,SX)$$

R 一般为烷烃或烃基，X 中含有烷氧基、芳氧基、烃基、卤素、胺基、酰胺、硫醚或硝基等基团。

有机磷杀虫剂一般可分为：①磷酸酯类(敌敌畏、敌百虫、磷胺等)；②硫代磷酸酯类(对硫磷、杀螟松、乐果、马拉硫磷等)；③焦磷酸酯及硫代焦磷酸酯类(苏化 203、硫特普等)；④磷酰胺及硫代磷酰胺类(甲胺磷、乙酰甲胺磷等)。

常见有机磷杀虫剂的结构见表 7-1。

表 7-1 常见有机磷杀虫剂的结构、蒸气压和毒性

名称与相对分子质量	别 名	化学结构式	蒸气压/Pa	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
磷酸酯类 phosphate				
敌敌畏 (dichlorovos) 220.92	DDVP	$(CH_3O)_2P(=O)\text{—}OCH=CCl_2$	1.6(20)* 9.9(40)	80(雄) 56(雌)
敌百虫 (trichlorfon) 257.38		$(CH_3O)_2P(=O)\text{—}CHOHCCl_3$	0.01(20) 13(100)	560～630
久效磷 (monocrotophos) 223.06		$(CH_3O)_2P(=O)\text{—}O\text{—}C(CH_3)=CH\text{—}C(=O)\text{—}NH\text{—}CH_3$	0.0093(20) 0.0665(125)	8～23

续表

名称与相对分子质量	别名	化学结构式	蒸气压/Pa	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
磷胺 (phosphamidon) 299.54		$(CH_3O)_2P(O)—O—C(CH_3)=CCl—C(O)—N(C_2H_5)_2$	0.0033(20)*	28.3
硫代磷酸酯类 thiophosphate				
乐果 (rogor) 229.16		$(CH_3O)_2P(S)—S—CH_2—C(O)—NHCH_3$	0.001(20) 13(117)	320～380
氧乐果 (omethoate) 213.10	氧化乐果	$(CH_3O)_2P(O)—S—CH_2—C(O)—NHCH_3$	0.0033(20)	30～60
内吸磷 (demeton) 258.28	1059	$(C_2H_5O)_2P(S)—O—CH_2—CH_2—S—C_2H_5$	0.034(20)	6～12
甲基内吸磷 (methyldemeton) 230.24	甲基 1059	$(CH_3O)_2P(S)—O—CH_2—CH_2—S—C_2H_5$	0.048(20) 20(89)	57～106
甲拌磷 (phorate) 260.23	3911	$(C_2H_5O)_2P(S)—S—CH_2—S—C_2H_5$	0.11(20)	1.6～3.7
马拉硫磷 (malathion) 330.20	4049	$(C_2H_5O)_2P(S)—S—CH(C(O)OC_2H_5)—CH_2—C(O)—OC_2H_5$	0.016(20)	1375～2800
对硫磷 (parathion) 291.15	1605	$(C_2H_5O)_2P(S)—O—C_6H_4—NO_2$	0.005(20) 80(160)	6～15
甲基对硫磷 (methyl parathion) 263.15	甲基 1605	$(CH_3O)_2P(S)—O—C_6H_4—NO_2$	0.00129 (20)	14～24
倍硫磷 (fenthion) 278.20	百治屠	$(CH_3O)_2P(S)—O—C_6H_3(CH_3)—SCH_3$	0.004(20) 0.01(30)	190(雄) 310(雌)

续表

名称与相对分子质量	别名	化学结构式	蒸气压/Pa	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
杀螟硫磷 (fenitrothion) 277.14	杀螟松	$(CH_3O)_2P(S)-O-C_6H_3(CH_3)-NO_2$	0.0008(20)	250~500
三硫磷 (trithion) 342.76		$(C_2H_5O)_2P(S)-S-CH_2-S-C_6H_4-Cl$	4×10^{-5}(20)	30~90
辛硫磷 (phoxim) 298.18	倍腈松	$(C_2H_5O)_2P(S)-O-N=C(CN)-C_6H_5$	1.33(120)	2170(雄) 1976(雌)
毒鼠磷 (phosazetim) 375.20		$(Cl-C_6H_4-O)_2P(S)-NH-C(=NH)-CH_3$		3.5~7.5
亚胺硫磷 (phosmet) 317.22		$(CH_3O)_2P(S)-S-CH_2-N(CO)_2C_6H_4$	0.13(50)	230(雄) 299(雌)
双硫磷 (temephos) 466.32		$(CH_3O)_2P(S)-O-C_6H_4-S-C_6H_4-O-P(S)(OCH_3)_2$		2030~2330
乙硫磷 (ethion) 384.50	1240	$(C_2H_5O)_2P(S)-S-CH_2-S-P(S)(OC_2H_5)_2$	2×10^{-4}(20)	47~208
水胺硫磷 (isocarbophos) 289.16	羧胺磷	$CH_3O-P(S)(NH_2)-O-C_6H_4-COOCH(CH_3)_2$		28.5
焦磷酸酯和硫代焦磷酸酯 pyrophosphate and thiopyrophosphate				
八甲磷 (schradan) 286.02		$[(CH_3)_2N]_2P(O)-O-P(O)[N(CH_3)_2]_2$	0.133(20)	9.1~4.2
治螟磷 (sulfotep) 322.16	苏化 203	$(C_2H_5O)_2P(S)-O-P(S)(OC_2H_5)_2$	0.0227(20)	5~10

续表

名称与相对分子质量	别名	化学结构式	蒸气压/Pa	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
		磷酰胺类 phosphorylamide		
甲胺磷 (tamaron) 141.06	多灭磷	$(CH_3O)(CH_3S)P(=O)-NH_2$	40(20)	20～30

* 括号内为温度，单位℃。

有机磷杀虫剂纯品一般为黄色或白色结晶，工业品大多为淡黄色油状液体，如乐果、对硫磷、甲胺磷等；少数为红棕色或深棕色油状液体，如久效磷、辛硫磷等，相对密度（比重）多大于 1；少数是熔点不高的固体，如敌百虫。

有机磷杀虫剂一般易溶于芳烃、乙醇、丙酮、氯仿、醋酸乙酯、二氯甲烷等有机溶剂，较难溶于石油醚和脂肪烃类。酰胺类如磷胺、甲胺磷、八甲磷可与水混溶，且可通过溶解于汗液而增强它们对机体的危害；久效磷、敌百虫、乙酰甲胺磷在水中有较大溶解度，但不易溶于烷烃类非极性溶剂；乐果、敌敌畏、甲基内吸磷等可略溶或微溶于水；其他绝大多数有机磷杀虫剂都难溶或不溶于水。

常温下，有机磷杀虫剂的蒸气压较低，但无论液体或固体，在任何温度下都有蒸气逸出，因而空气中浓度较大，易经呼吸道吸入中毒。

有机磷都具有强弱不等的气味，含硫的有强烈蒜臭味，不含硫的则有酯的气味或刺激性气味。尸体解剖过程中和所送检的检验材料也常能闻到有机磷的气味（如对硫磷、甲拌磷、马拉硫磷等），有一定经验的人还能从气味中分辨杀虫剂的类别。有机磷自杀急死者胃内容物常为乳白色或飘浮有少量油状液体，且具有特殊气味，这些都对探索检验方向有利。

有机磷杀虫剂不具酸碱性，不能与酸或碱成盐，不宜用改良的 Stas-Otto 法进行分离，也不能用反提法进行净化。绝大多数有机磷杀虫剂分子中含有易断裂的酯键，化学性质多不稳定，在生产和存放过程中，温度、水分、金属离子催化等皆影响其稳定性，使其发生水解、异构化，但酰胺类较难水解。

有机磷在氧化剂或生物酶作用下被氧化而变质；碱能使之分解，有些杀虫剂在强酸性条件下也能分解，检验时应予以重视。例如，pH<2 或 pH>9 的介质均能促进甲拌磷水解，其速度取决于温度和酸碱度；马拉硫磷在 pH 7.0 以上或 pH 5.0 以下则迅速水解，而在 pH 5.3 的缓冲水溶液中稳定。

有机磷杀虫剂大多不耐热，随着温度升高分解加速。如敌敌畏在酸性介质中，20℃时 $t_{1/2}$ 为 61.5 天，当温度增至 70℃时，则缩短到 4 h 左右。

（一）中毒症状和体内过程

有机磷杀虫剂中毒的入体途径主要是经消化道、皮肤黏膜吸收、呼吸道吸入，也有通过静脉注射、阴道塞入等胃肠外途径谋害的。有机磷进入机体后，抑制胆碱酯酶活性，影响神经系统功能。急性中毒的潜伏期因品种、剂型和入体途径而有所不同。经口中毒大多发生于 30 min 内，中毒量较大者在 10 min 内可出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻、流涎、出汗、呼吸困难、瞳孔缩小等中毒症状，死亡时间一般为 1～5 h。经呼吸道吸入时，一般 30～50 min出现瞳孔缩小、呼吸困难等症状；大剂量吸入高毒有机磷可发生闪电式中毒或死亡。经皮肤中毒一般 4～6 h 中毒部位的肌肉出现纤维性颤动，并随着时间延长而加剧。长期接触少量有机磷，可有头晕、乏力、多汗、

恶心、食欲不振；有时可出现肌束震颤、瞳孔缩小等症状，程度较轻。重症有机磷中毒病例也有经治疗初步好转，有的已基本恢复，而在第3～15天突然发生死亡。这种迟发性突然死亡的案例，以乐果重症病例较多见，也可见于对硫磷、内吸磷、敌敌畏、甲胺磷、马拉硫磷等。

1999年夏天，某市唐某（男，30岁）在其丈人家喝酒后，感觉身体不适，3小时后死亡。法医师在尸检中未发现身体有任何异常特征。提取死者的肝、心、血和胃内容物，用气相色谱/质谱法进行毒物分析，结果在死者肝组织、心、血中除检出对硫磷（1605）农药外，还检出氨基对硫磷，胃内容物中未检出对硫磷。

检验结果表明，死者体内的对硫磷不是通过胃肠道摄入，怀疑是皮肤吸收中毒。因此又提取唐某死时所穿衣服进行毒物分析，从其衣裤上也检出对硫磷。原来在12天前唐某和妻子吵架时，其妻打开一瓶1605农药欲行自杀，在阻拦过程中部分1605液体溅到了唐某的裤子上，唐某未加注意，稍微漂洗了一下，便又穿在身上。因天气炎热，唐某只穿一条裤子，其裤子上的1605经过皮肤积累性吸收最终引起其死亡。

有机磷在体内吸收后随血液和淋巴液迅速分布到全身各组织器官，并与组织蛋白牢固结合。小鼠皮下注射对硫磷后的放射活性以唾液腺、肝、肾及脂肪组织为最高，胃肠道壁、甲状腺、脾和肺次之，肌肉、脑和骨髓为最小。

有机磷在肝中进行代谢后多经肾排出，排出速度较快，一般在24 h内经尿液排出，部分从肺呼气排出，少量经粪便排出。有研究报道，有机磷吸收入体后可迅速经肝排泄入胆汁，包括原形和代谢物，中毒后1 h，在胆汁中可检出高浓度的敌百虫、久效磷及甲基对硫磷，中毒96 h当血浆中已检不出这三种杀虫剂时，胆汁中仍能检出。小白鼠腹腔注射对硫磷后20 min左右减少50%，20 h后减少至5%以下。有机磷进入机体后，能迅速被吸收代谢，体内代谢主要为氧化及水解反应，氧化产物较原来的毒性增强，而水解的结果则毒性减弱。

硫代磷酰基在体内氧化脱硫生成磷酰基化合物。具有硫醚结构的有机磷农药氧化成亚砜，然后进一步氧化成砜。磷酰胺酯型农药可氧化成相应的磷胺氧化物。哺乳动物体内的磷酸酯酶能水解某些有机磷农药，将P—X键水解为P—OH键，使其失去抑制胆碱酯酶的作用，而各种有机磷农药的代谢产物不相同。多数有机磷化合物的代谢产物是烷基磷酸酯、烷基二磷酸酯和烷基三磷酸酯。代谢产物往往在一个较短的时间里随尿液排出。

（二）检材采取和处理

体内各器官存在的胆碱酯酶迅速水解有机磷杀虫剂，死亡时间较长者尸体内脏中含量急剧降低，特别是在碱性介质中分解更快。在中毒死后，血液、脏器的存放过程中，有些有机磷杀虫剂降解速度也较快。例如，久效磷中毒死亡者的胃和肝，死后检验时为阳性，检材存放冰箱中3个月后肝中检不出，而10个月后胃组织中也检不出。因此，对怀疑杀虫剂中毒的检验，检材应及时采取送检，需保存时，应低温冷冻保存，并避免与碱性物质接触。口服杀虫剂中毒急救时，往往用高锰酸钾溶液、碳酸氢钠溶液或肥皂水等洗胃，以致胃内容物失去检验意义。杀虫剂品种多，特别是混配杀虫剂的出现，使杀虫剂中毒已不限于单一品种中毒。有些市售商品的同一药物名称杂乱，为消除地区、产地差异，在接受检验委托时，应要求同时取送与案情相关联的当地杀虫剂作为对照样品。

当怀疑有机磷杀虫剂中毒时，应注意收

集剩余食物、饮料、现场药瓶、呕吐物等体外检材以及血、尿、洗胃液等活体检材；对死亡者，可取胃内容物、血、尿、肝、肾、胆汁等检材。

提取检材中有机磷，应根据本类药物的极性，选择不同的有机溶剂。

有机磷极性由弱至强的顺序大致为：辛硫磷、甲拌磷、乙拌磷、对硫磷、甲基对硫磷、倍硫磷、杀螟松、马拉硫磷、亚胺硫磷、对氧磷、敌敌畏、内吸磷、乐果、敌百虫、氧乐果、磷胺、甲胺磷。

依据相似相溶原理，非极性或弱极性的杀虫剂宜选用非极性或弱极性溶剂，对极性较强的杀虫剂可选用极性溶剂。但能溶于极性溶剂的物质较多，提取时要根据杀虫剂极性的强弱和检材中脂肪、蛋白质、色素等杂质含量的高低选择合适的溶剂。

一些有机溶剂极性由小到大的顺序为：石油醚、环己烷、甲苯、苯、氯仿、乙醚、醋酸乙酯、正丁醇、正丙醇、丙酮、异丙醇、乙醇、醋酸、甲醇、甲酸、水。

提取生物检材中有机磷杀虫剂常用的溶剂有醋酸乙酯、乙醚、石油醚、苯、丙酮、二氯甲烷、氯仿、乙腈等。怀疑杀虫剂中毒的事件，有时可能是几种杀虫剂同时存在。而不同种类杀虫剂的极性有一定差异，如使用混配杀虫剂 20%氧乐氰菊乳油，其中含有 18%氧乐果和 2%氰戊菊酯，氰戊菊酯极性较弱，而氧乐果的极性则相对较强。为提高提取效率，去除杂质干扰，也可使用两种或两种以上不同极性的溶剂按不同比例混合使用。

根据检材性状和分析方法的需要，有机磷杀虫剂的提取方法一般有：无水硫酸钠研磨后有机溶剂直接提取法、液-液提取法、固相萃取和固相微萃取法。

1. 直接提取法　对固体检材（如粮食、固态食物等），加入适量的苯、醋酸乙酯或氯仿振摇提取或在超声波中浸提、过滤、浓缩；对不含固形物的液体状检材（如饮料、水、酱油等），可直接加入等容的与检液不相混溶的有机溶剂如苯或二氯甲烷振摇萃取多次，合并提取液后净化浓缩；固形物较多的检材如蔬菜、剩余的饭菜、胃肠内容物、尸体脏器等，可将检材切细或捣碎后，加适量无水硫酸钠研磨至干沙状，用极性相似的疏水性有机溶剂提取、过滤后，检材再用溶剂提取二次，合并提取液进行净化、浓缩。

极性弱的有机磷杀虫剂，如辛硫磷、甲拌磷可用己烷、石油醚等有机溶剂萃取；极性较强的敌敌畏、乐果、敌百虫等可用乙醚、二氯甲烷、氯仿、丙酮等溶剂萃取；能溶于水的磷胺、久效磷、八甲磷、甲胺磷等极性强，可用醋酸乙酯或混合溶剂如丙酮-乙醇（2∶3）、氯仿-丙酮（6∶1）、丙酮-乙醇-氯仿（2∶3∶25）等萃取。

2. 液-液提取法　对于水分多而含有固形物的稀薄检材，如尿液、血液和洗胃液等，可取 2～4 mL，用二氯甲烷、氯仿、醋酸乙酯或乙醚直接提取。也可先加入能与水混溶的有机溶剂如丙酮或乙腈，加入量一般为检材体积的 2 倍。混匀后置高速旋转捣碎器中捣碎，而后过滤、离心或压榨，取其溶液部分。滤渣可再重复处理一次，使杀虫剂尽量转移入溶液中。检材中含脂肪多时，溶剂宜选用乙腈。以上处理所得溶液，可利用盐析法，用约 5 倍量的 2%硫酸钠溶液稀释，以降低杀虫剂在丙酮或乙腈提取液中的溶解度，然后选用不相混溶的有机溶剂进行萃取，萃取液经无水硫酸钠脱水后浓缩。

3. 固相萃取法　有机杀虫剂多含有脂溶性基团，生物检材中微量有机杀虫剂及其代谢物宜选用固相萃取法分离净化，可避免液-液萃取的乳化问题和长时间加热蒸发溶剂引起杀虫剂的分解。所用的固相填充物可选用非离子型多孔性大孔网状吸附树脂，如

疏水性的苯乙烯-二乙烯苯共聚物 Amberlite 系列中的 XAD-2、XAD-4 及国产的 GDX-403、X-5 树脂；也可选用以硅胶为担体的化学键合相 Sep-PakC_{18}或活性炭等。预先应对小柱进行活化。

用固相萃取分离生物材料中的杀虫剂，首先要对生物组织等固体样品或体液进行预处理。对于血液样品通常加 5～10 倍（体积比）的缓冲液或蒸馏水稀释后直接通过固相萃取柱；尿液、唾液及脑脊液等也可直接通过固相柱。脏器等检材需经过匀浆、沉淀蛋白质、加缓冲液稀释、酶解或水解等操作，并进行离心分离，取上清液通过固相萃取柱，用醋酸乙酯、氯仿-异丙醇、二氯甲烷或氯仿等有机溶剂淋洗。

方法 1：取组织匀浆 0.5 g，加入一定量的内标物，涡旋 0.5 min，室温放置 2 h，加入 3 mL 乙腈，涡旋 2 min 过已活化的 Sep-Pak C_{18}小柱，流速小于 5 mL/min。这样可使相对分子质量相对小、亲脂性的待测杀虫剂保留在固相柱上，而相对分子质量大的亲水性杂质则流出柱外。用 10 mL水洗柱，再用 3 mL 氯仿-异丙醇(9∶1)洗脱样品中的待检成分，用试管收集洗脱液，弃去上层水，K-D 浓缩器浓缩或于室温氮气流下将有机相挥发至近干，残液供仪器分析。

方法 2：用 5～10 mL 甲醇淋洗 GDX-403 或 C_{18}小柱使其活化，再用 10 mL 蒸馏水或 pH＝6.0 的磷酸缓冲液将柱中甲醇洗去，使小柱处于水溶性状态。1 mL 检血（或组织匀浆）加 9 mL 水混匀，以 2 mL/min左右的流速注入固相柱中，用 5～10 mL 蒸馏水洗涤小柱以除去亲水性杂质和色素。挤干或抽干柱中残留的水相，用 3 mL 氯仿或醋酸乙酯将柱中吸附待测成分洗脱下来，收集洗脱液并挥至近干，残液供仪器分析。

对于水性检材中的甲胺磷、久效磷等，用活性炭吸附萃取法，可提高回收率。如，取水样 2～5 mL 置于具塞三角瓶中，加入 1～2 g 预处理过的活性炭于振荡器上振摇 30 min，弃去水液，取出活性炭于研钵中加入无水硫酸钠研磨至干沙状，然后用二氯甲烷或氯仿提取两次。合并提取液于 K-D 浓缩器浓缩。杂质多时可用液-固净化柱净化，也可用酸洗的活性炭柱富集，二氯甲烷淋洗。

4. 顶空固相微萃取法　具有挥发性杀虫剂的萃取可采用顶空固相微萃取（HS-SPME）法。

有机物的萃取符合“相似相溶”原则，不同的涂层萃取不同的待测物。当分析混配杀虫剂或检索性筛选时，宜选用非极性涂层如聚二甲基硅氧烷；对极性杀虫剂可选用极性涂层聚丙烯酸酯。调节样品至合适的 pH，可使杀虫剂在水相中的溶解度减小。分析大多有机杀虫剂可将样品 pH 控制在中性或酸性，但在强酸中易分解的杀虫剂则应调节为中性。通过向血样、尿样等水性样品中加入无机盐（NaCl、Na_2SO_4 等），水溶液的离子强度增大，杀虫剂的溶解度减小，可提高分析的灵敏度。

例如，固相微萃取器插入 GC 进样口，将涂有聚二甲基硅氧烷的纤维于 250℃下加热 1 h 以去除杂质。在 7.5 mL 管形瓶中分别加入 0.5 mL 含有杀虫剂的全血、0.5 mL 蒸馏水、100 μL 6 mol/L HCl 溶液调节 pH＝3（或加入 0.5 mL 含有杀虫剂的尿样、0.5 mL 蒸馏水、100 μL 6 mol/L HCl 溶液、0.4 g $(NH_4)_2SO_4$、0.4 g NaCl）。管形瓶用硅垫帽密闭，100℃下振荡加热 15 min，SPME 针头经硅垫帽刺入，在瓶内液体上方暴露预处理后的纤维 20 min 以充分吸收样品，纤维拉回针内拔出，进样。

鉴于有机磷杀虫剂的热不稳定性和遇碱易分解的特性，提取液净化时应避免与碱性吸附剂接触，常采用以下方法进行浓缩。

1. K-D(Kuderna-Danish)浓缩器　K-D浓缩器(图7-1)是专为溶质具有一定挥发性的有机溶液设计的。它由梨形瓶和分馏塔组成，底部有可以根据需要而更换的容器供盛装溶液，有刻度尾管的容器还可用于定容。由于溶质的蒸气压比溶剂的低，溶质的蒸气可在梨形瓶瓶壁和分馏塔中凝聚回流，而溶剂可不断挥发，达到蒸发浓缩同时避免溶质挥失的目的。为了提高溶剂挥发速度，缩短加热时间，可用抽气或通气的办法加大气相流通量，加速破坏溶剂的气液平衡，使溶剂在低于沸点的温度下加速挥发，可以降低温度和缩短时间。如果溶质是易于被氧化变质的，则应通入氮气流。K-D蒸发浓缩器还可以添加温度监控和溶剂回收装置。

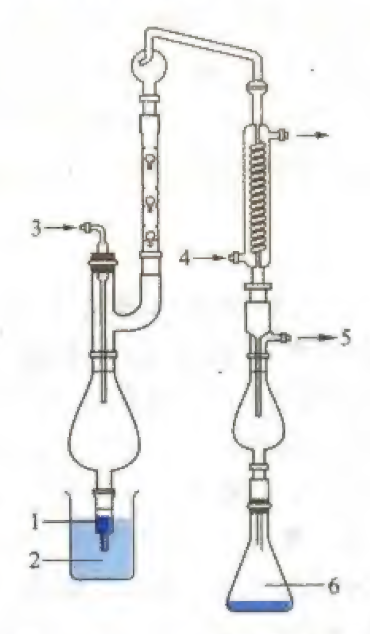


图7-1　K-D浓缩器示意图

1. 提取溶液；2. 加热浴；3. 干燥空气或氮气入口；4. 冷凝水进口；5. 气流出口或抽气口；6. 回收溶剂接受瓶

2. 水浴浓缩　提取液可在常温下或置于50℃左右的水浴上用氮吹仪在氮气流下吹至一定体积。也可在一般的蒸发皿中蒸发浓缩。因有机杀虫剂在高温条件下易分解，要求水浴温度不能高于60℃，且不能蒸干溶液。

3. 旋转蒸发器　其特点是蒸发溶剂的圆底烧瓶是可以旋转的，能在减压和低于50℃的条件下较快地、平稳地蒸馏浓缩，而不发生爆沸现象。蒸发液通过大孔径蒸发管进入粗直径冷凝管，可加快蒸发速度。缺点是不能做高度浓缩，因为浓缩后还需转移洗涤。

（三）检测方法

1. 胆碱酯酶(ChE)活性的测定方法

有机磷化合物进入机体后，主要抑制机体内胆碱酯酶(ChE)，使之失去活性，从而丧失分解乙酰胆碱酯酶(AChE)的能力，乙酰胆碱在体内蓄积，引起神经系统功能紊乱的中毒表现，其症状的严重程度基本上与红细胞胆碱酯酶活性的抑制程度相平行。例如，血液AChE活性降低至正常人的50%～70%为轻度急性中毒，降至30%～50%为中度急性中毒，降至30%以下时为重度急性中毒。临床上的RBC-AChE活性测定可以帮助诊断和提供中毒信息。

常用的RBC-AChE活性测定方法有羟胺比色法(羟肟酸铁比色法)、硫代胆碱α硝基苯甲酸法、DTNB比色法、检压法、pH法、BTB纸片法、全血胆碱酯酶快速测定盒比色法以及WHO推荐的RBC-AChE简捷测定箱等。

例：DTNB比色法是以硫代乙酰胆碱酯为基质，以DTNB(5,5'-二硫代双-2-硝基苯甲酸)为显色剂，以毒扁豆碱或硫酸奎尼丁为酶反应终点抑制剂以及以谷胱甘肽为酶活性标准物，测定红细胞RBC-AChE活性。

另外，利用有机磷可抑制胆碱酯酶的原理，用薄层层析-酶抑制法也可测定有机磷杀虫剂。在点加检液并展开的薄层板上喷

酶溶液(用动物的肝或血清制备的酶液),38℃烘箱中完成酶抑制反应,取出后再喷含β-萘酯的底质溶液,底质溶液被酶分解产生β-萘酚,萘酚与牢固蓝B染料起重氮化反应,生成玫瑰红色。而有有机磷杀虫剂处因酶受抑制不分解β-萘酚,故呈白色斑点,从而可检出有机磷杀虫剂。灵敏度可达ng级。

2. 化学显色法　可用二氯化钯反应和间苯二酚-氢氧化钠反应对体外检材进行快速预试验和筛选试验,区分硫代磷酸酯类和磷酸酯类。

(1) 二氯化钯反应　硫代磷酸酯类化合物与二氯化钯试剂作用生成黄色或黄褐色物质。

取萃取浓缩液一滴于滤纸上,稍挥干,加入0.5%二氯化钯试剂(取0.5 g二氯化钯,先用少许0.1 mol/L盐酸溶解,再用水稀释至100 mL)一滴,如显黄色或黄褐色,表示可能有含硫的有机磷杀虫剂存在。对硫磷、甲基对硫磷、杀螟松等需在100℃加热烤20～30 min才显色,可与不含硫的磷酸酯类区别,灵敏度5～10 μg。

(2) 间苯二酚-氢氧化钠反应　敌敌畏、敌百虫、久效磷和二溴磷水解后生成二氯乙醛,在碱性条件下,与间苯二酚缩合,可生成红色化合物。

取检液一滴于滤纸上,或用滤纸蘸取少许怀疑口服敌百虫、敌敌畏等中毒的胃内容物,加5%间苯二酚乙醇液和5%氢氧化钠液各一滴,在电炉或酒精灯上微热片刻,如有敌百虫、敌敌畏、二溴磷及久效磷即显红色,灵敏度1～5 μg。此反应对水合氯醛也显红色。

3. 薄层色谱法　吸附剂:硅胶、硅胶G、硅胶CMC-Na、硅胶GF_{254}等。

展开剂:不含氨碱性的有机溶剂。常用的展开剂有:Ⅰ:环己烷-丙酮(4∶1);Ⅱ:氯仿-丙酮(9∶1);Ⅲ:氯仿-丙酮(4∶1);Ⅳ:苯-环己烷(4∶1);Ⅴ:环己烷-氯仿(1∶1);Ⅵ:正己烷-丙酮-无水乙醇(80∶20∶2)。

显色定位:用硅胶GF_{254}薄层板时,在254 nm的紫外灯下观察,含共轭不饱和键结构(如芳环)的杀虫剂斑点处无亮绿色荧光。可用双波长薄层扫描仪对斑点作原位紫外吸收扫描,吸收波长可配合比移值进行定性分析;用已知品对照,吸收峰面积或峰高与含量有线性关系,可进行定量分析。

化学显色时,含硫有机磷可选二氯化钯、溴酚蓝-醋酸、二氯醌氯亚胺-溴、溴-刚果红等显色剂;磷酸酯类可选间苯二酚-氢氧化钠显色剂。

(1) 溴酚蓝-醋酸显色　喷以溴酚蓝试剂于薄层板上呈均匀蓝色,60℃烘箱中加热5～10 min,再喷5%醋酸溶液至背景为浅黄色,含硫有机磷显蓝色斑。灵敏度2～5 μg。有机磷杀虫剂含量大时,斑点中心呈黄色,外围呈蓝色。

(2) 二氯化钯显色　喷以0.5%二氯化钯试剂,含硫有机磷立即显黄色或棕色斑点,背景无色。对硫磷、甲基对硫磷、杀螟松需在110℃烘箱中加热30 min。灵敏度5～10 μg。

(3) 间苯二酚-氢氧化钠显色　先喷以5%间苯二酚乙醇液,再喷以5%氢氧化钠溶液,稍加热。敌敌畏、敌百虫、久效磷、二溴磷显红色斑点,灵敏度1～5 μg。其他有机磷不显色。

由于商品杀虫剂在空气中久置后易产生氧化、分解产物,体内检材提取液中可能有杀虫剂的代谢产物,因此,薄层分析中常出现多个斑点,勿轻易认为是多种农药中毒,分析时应用当地工业对照品或代谢物作对照。

4. 气相色谱法　气相色谱法是分析有机磷杀虫剂的常用方法。检材经提取净化,定容后无需衍生化即可直接进样分析。有机磷分子结构中大多含磷和硫,检测器

可用对硫、磷具有高灵敏度的FPD或NPD，也可选用有机物的通用检测器FID，并用GC-MS作为确证手段。色谱柱一般以弱极性或中等极性的固定相为宜，可用DB-5、OV-101、SE-30或SE-54等毛细管交联柱。有机磷高温易分解，柱温不宜过高，选用适中柱温170～230℃。各种有机磷杀虫剂的保留时间差别较大，在分析混配杀虫剂或检索性筛选时宜用程序升温。此处介绍两种不同检测器分析多种杀虫剂的气相色谱分析条件：

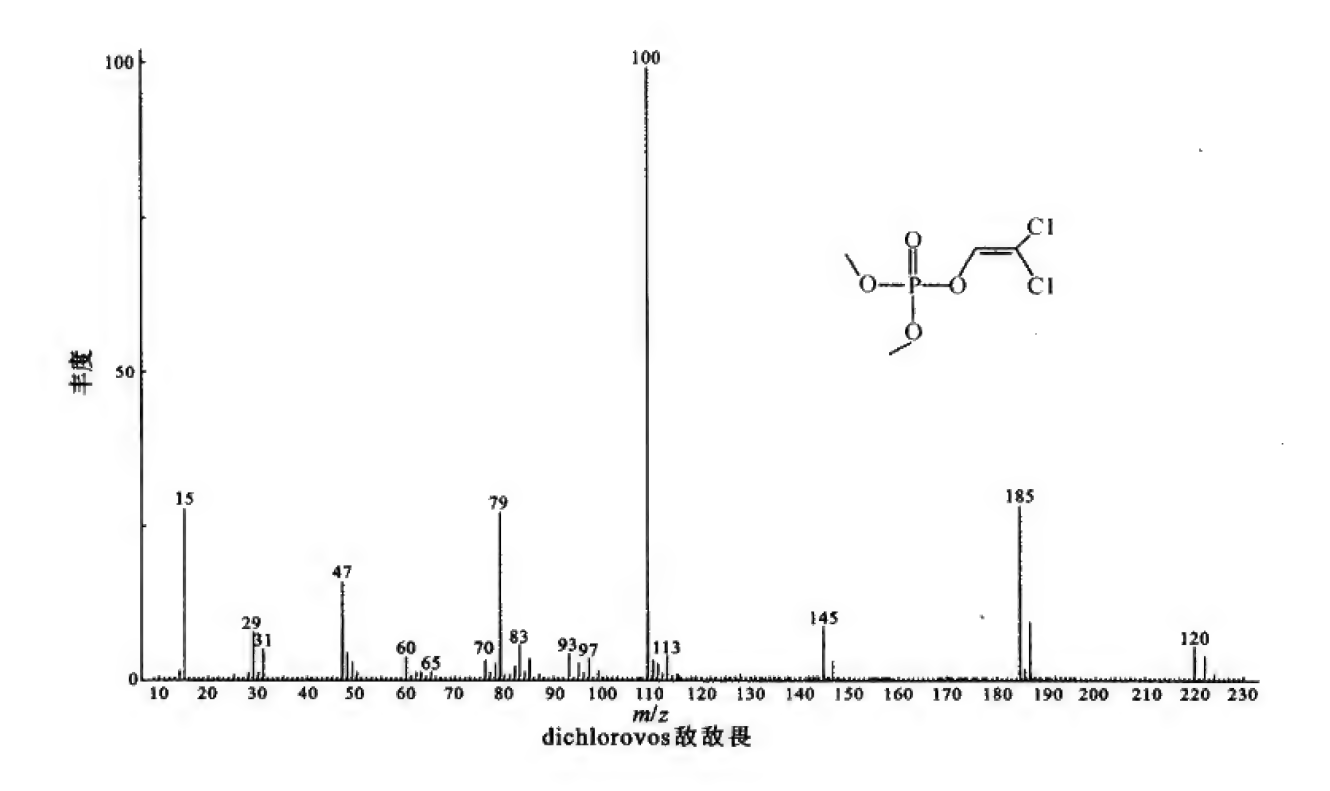
方法1：60 m×0.32 mm×0.25 μm的HP-5弹性石英毛细管柱，NPD检测器，检测器和进样口温度为250℃。柱温：50℃（1 min）→25℃/min→100℃（1 min）→5℃/min→150℃（2 min）→5℃/min→200℃（5 min）→5℃/min→300℃（9 min），共运行60 min。载气（N_2）流量10.0 mL/min，氢气流量4.0 mL/min，空气流量60.0 mL/min，分流比1∶30。分析25种农药，除喹硫磷和叶蝉散沸点接近，在此条件下难以分离外，其余23种可相互分离开。农药名称为：敌敌畏、异稻瘟净、水胺硫磷、喹硫磷、久效磷、乙硫磷、乐果、氧化乐果、甲基对硫磷、倍硫磷、乙酰甲胺磷、甲胺磷、马拉硫磷、甲拌磷、地亚农、西维因、粉秀宁、速灭威、抗蚜威、叶蝉散、呋喃丹、杀虫双、辛硫磷、百菌清、对硫磷。

方法2：25 m×0.32 mm的SE-54毛细管柱，FPD检测器和进样口温度分别为280℃和260℃。柱温：150℃（1 min）→5℃/min→240℃（1 min）。载气（N_2），流速（柱前压）1.38×10^5 Pa，6种有机磷的保留时间从小到大依次为：DDVP、3911、1059、乐果、杀螟松、1605。

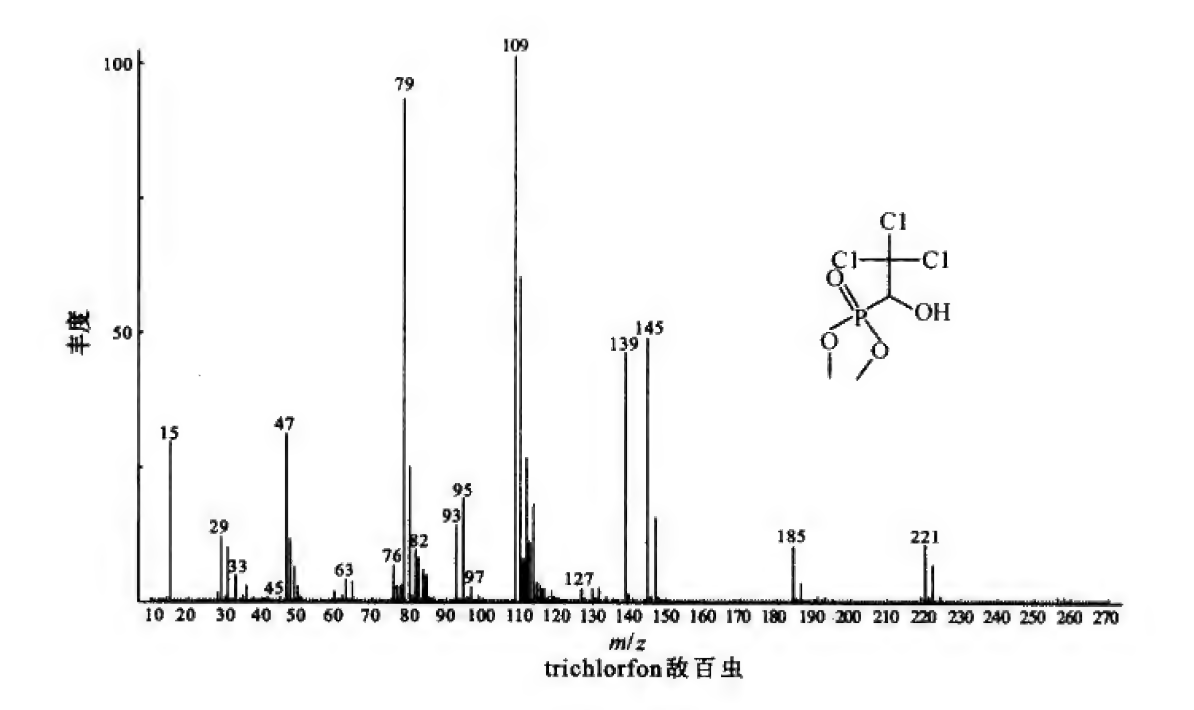
5. 气相色谱/质谱联用法　杀虫剂气相色谱分析中杂质干扰大，定性较困难，GC-MS联用法分析是有机磷杀虫剂定性定量检测的有效手段。通常配置无流失毛细管柱，如SE-32MS、SE-54MS、HP-1701MS、DB-5MS等。质谱条件：EI源，电离电压70 eV，质量数范围50～500，载气为高纯氦气，接口温度250～280℃，柱流量1.0 mL/min，用恒压、脉冲不分流或分流进样；CI源可用负离子质谱，用甲烷作反应气。通常体外检材或含量较高的体内检材，用全谱扫描方式检测，但有时体内检材杀虫剂含量低，杂质干扰严重，则需采用SIM方式进行或离子阱质谱（MS-MS）分析。

例：分析检液中敌敌畏、乐果、甲胺磷、马拉硫磷、对硫磷，选用HP-5 MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm毛细管柱，柱温50℃（3 min）→20℃/min→130℃→30℃/min→190℃（10 min）。进样口温度250℃，接口温度280℃，柱流量1.0 mL/min，脉冲不分流进样，脉冲压力40 psi，时间0.5 min；EI源，电离电压70 eV，质量数范围50～300，五种有机磷杀虫剂可得到很好分离，各组分用于定量的特征离子质荷比分别为：109，185；87，125；94，141；173，125，93；109，291，97。

图7-2是三个结构相近的有机磷杀虫剂敌敌畏、敌百虫和久效磷质谱图，表7-2是23种有机磷杀虫剂的主要碎片离子。



dichlorovos敌敌畏



trichlorfon敌百虫

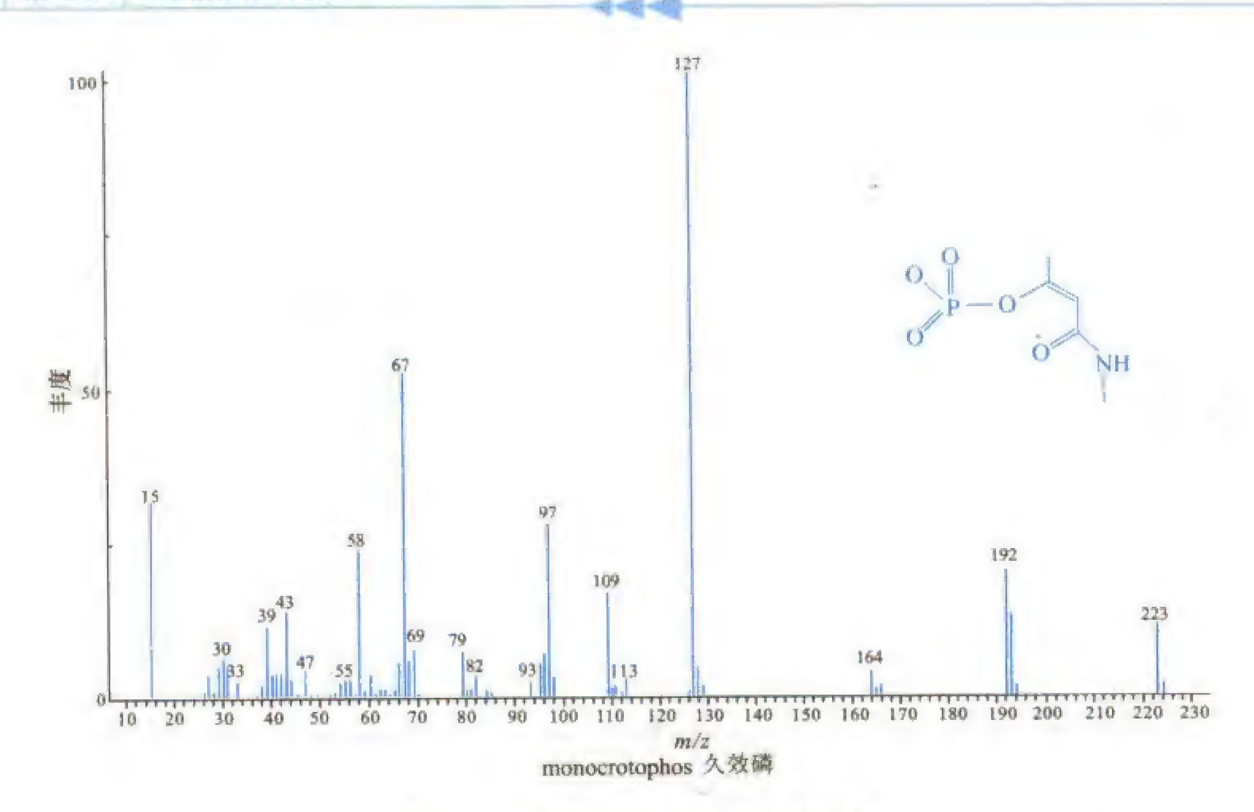


图 7-2 敌敌畏、敌百虫和久效磷质谱图

表 7-2 有机磷杀虫剂质谱主要碎片离子

杀虫剂名称	相对分子质量	分子离子峰	基峰	主要碎片离子
敌敌畏(dichlorovos)	220.92	220	109	185,145,109
敌百虫(trichlorfon)	257.38	—	109	221,185,145,139,109
久效磷(monocrotophos)	223.06	223	127	192,127,109,97
磷胺(phosphamidon)	299.54	—	127	264,193,158,138,109
甲胺磷(tamaron)	141.06	141	94	126,111,94
八甲磷(schradan)	286.02	286	153	243,153,125,97
乐果(rogor)	229.16	229	87	145,125,93,87
氧乐果(omethoate)	213.10	213	110	156,141,126,110
			156	
内吸磷(demeron)	258.28	258	88	171,143,115,88
甲基内吸磷(methyldemeton)	230.24	230	88	142,125,109,88,60
甲拌磷(phorate)	260.23	260	75	231,121,97,75
马拉硫磷(malathion)	330.20	—	125	256,211,175,158,125,93
对硫磷(parathion)	291.15	290	291	265,235,218,186,155,139,125,109
甲基对硫磷(methyl parathion)	263.15	263	109	246,200,125,109
倍硫磷(fenthion)	278.20	278	278	263,245,169,155,109
杀螟硫磷(fenitrothion)	277.14	277	277	260,125,109
三硫磷(trithion)	342.76	342	157	296,199,157,121
辛硫磷(phoxim)	298.18	298	77	157,129,97,77
毒鼠磷(phosazetim)	375.20	374	206	247,231,206,190,168
亚胺硫磷(phosmet)	317.22	317	160	192,160
双硫磷(temephos)	466.32	466	466	341,205,125,109,93
治螟磷(sulfotep)	322.16	322	322	294,266,238,202
乙硫磷(ethion)	384.50	384	231	338,231,153,125

6. 液相色谱/质谱联用法　有机磷杀虫剂因不具酸碱性，因此选用液相/大气压化学电离接口/质谱(LC－APCI－MS)中的正离子或负离子模式测定较好，有机磷杀虫剂中对硫磷、甲基对硫磷和溴硫磷用负离子模式检测灵敏度高，正离子模式测定无响应信号，而 triazophos 用负离子模式则检测灵敏度低。正离子模式显现的$[M+H]^+$为主要信号，负离子模式仅有碎片离子。

例：用热喷淋 HPLC－MS 技术分析久效磷、谷硫磷、氯蜱硫磷等杀虫剂。分析条件：C_8 不锈钢柱(4.6 mm×25 cm)，流动相 50%甲醛含 0.1 mol/L 醋酸胺溶液，柱温 148℃，流速 1.6 mL/min，柱前压 0.1 kPa，柱后压 7.7×10^{-5} kPa，电子能量 100 eV，发射电流 0.4 mA，离子源温度 150℃，质谱仪在 2 s 之内，质荷比 m/z 由 80～550 扫描。久效磷、谷硫磷、氯蜱硫磷等杀虫剂的检出限为 10 ng。

样品用丙酮萃取，经凝胶柱净化后用二氯甲烷再进行萃取，萃取液经氮气流浓缩后进行分析。

（四）代谢物分析

有机磷杀虫剂的代谢主要有氧化、水解或还原。有的杀虫剂的代谢产物比较稳定，在尸体存放过程中降解也较慢，有时在检不出体内有机磷杀虫剂原形物的情况下，这些代谢物的检出可作为推断杀虫剂存在的依据。例如，硫代磷酰基的马拉硫磷、甲基对硫磷、乐果等杀虫剂在体内的氧化产物分别为马拉氧磷、甲基对氧磷、氧乐果等；具硫醚结构的内吸磷、甲拌磷的氧化产物为亚砜和砜；对硫磷进入机体后，可被氧化成对氧磷，部分水解成硫代磷酸二乙酯和对硝基酚等，主要还原为氨基对硫磷，实践工作中查明对硫磷中毒的尸体血液和内脏中都存在氨基对硫磷。对硫磷的代谢途径如下：

对硫磷的代谢途径

敌敌畏在机体内迅速代谢为磷酸二甲酯(或磷酸三甲酯)和二氯乙醛。磷酸二甲酯随尿排出。少量敌敌畏进一步水解为磷酸一甲酯和二氯乙醛。磷酸一甲酯经尿排出。

1. 对硫磷和氨基对硫磷的分析　氨基对硫磷较稳定，有时死亡很久后的检材中已检不出对硫磷，但能检出氨基对硫磷。

(1) 对硫磷和氨基对硫磷的分离提取：组织检材及血、尿等液体检材皆可用己烷直接提取。组织检材捣碎后加入略少于检材量的无水硫酸钠及 5 倍量的己烷，剧烈振摇，吸取己烷溶液供检。血、尿等体液可加入 pH 7 的缓冲液控制 pH，用等量己烷萃取。萃取液挥干，用己烷溶解定容供检测，必要时做净化处理。

(2) 薄层色谱分析：对硫磷的氧化、还原产物可用薄层色谱法检验。在硅胶 GF_{254} 板上用乙醚或己烷-乙醇-丙酮(3∶1∶1)作展开剂。对硫磷、对氧磷、氨基对硫磷三种物质

可得到较好分离。可用下列方法显色：

① 对硫磷、氨基对硫磷、对氧磷均含有芳环，在 254 nm 紫外光下观察，可见绿色荧光背景下的紫外吸收斑点。

② 用 25%荧光素钠的乙醇溶液喷雾，置溴蒸气中熏 0.5 min，对硫磷和氨基对硫磷在粉红色背景下呈现黄色斑点，对氧磷无反应。

③ 用 1%亚硝酸钠的 1 mol/L 盐酸溶液喷雾，放置 1 min，待重氮化反应完成，用 0.4%N-萘基乙二胺盐酸盐的甲醇溶液喷雾。氨基对硫磷在白色背景下出现紫红色斑点，对硫磷和对氧磷无反应。

（3）气相色谱和气相色谱/质谱联用法分析　气相色谱分析可用氮磷检测器，在弱极性或中等极性的固定相上，进样口和检测器温度 220℃，柱温 190℃下测定保留时间，对硫磷、氨基对硫磷、对氧磷可得到分离。

气相色谱/质谱联用法分析可用 OV-1701 为固定相的填充柱或毛细管柱，用甲烷作反应气，以 CI 源方式作质谱检测。对硫磷、氨基对硫磷及对氧磷的 M+1 峰质荷比分别为 292、262、290。也可用 EI 源，用选择离子检测或取出质谱图核对鉴定，氨基对硫磷的特征离子 m/z 为 261，233，205，125，109，97，80。

2. 敌敌畏代谢、降解产物的分析　敌敌畏是一种很不稳定的化合物，当它进入机体后，在磷酸酯酶的作用下迅速水解，产生多种水解产物，有磷酸二甲酯、去甲基敌敌畏、二氯乙酸等。血中敌敌畏由于磷酸酯酶的作用，随存放时间延长而迅速降解，降解产物磷酸三甲酯、一氯敌敌畏随敌敌畏的水解有一个明显升高过程，当敌敌畏被分解至一定浓度后，磷酸三甲酯、一氯敌敌畏浓度又逐渐下降，但在死后较长时间内，仍有可能被检出。

（1）血中敌敌畏及水解、代谢物的提取　血中的敌敌畏可用 4 倍于检血量的乙醚或氯仿提取，提取液过中性氧化铝柱后浓缩备检；磷酸三甲酯可用苯萃取，再净化浓缩；二氯乙酸的极性很大，检血用一般有机溶剂提取的效果差，可采用重氮甲烷乙醚溶液提取，使二氯乙酸甲酯化，生成极性小的二氯乙酸甲酯进入乙醚溶液而被提出。各萃取物可分别用气相色谱检测。

（2）敌敌畏及其降解、代谢物的气相色谱分析　敌敌畏及其降解、代谢物极性都较大，宜选极性较强的固定相，如 PEG-20M/chromosorb W80～100 目填充柱。检测器为 FPD-P，气化室温度 180℃，柱温 150～160℃，载气（N_2）55 mL/min。敌敌畏、磷酸三甲酯、一氯敌敌畏可得到较好的分离。

3. 尿中有机磷二烷基磷酸酯类代谢物分析　大多数有机磷杀虫剂可在体内代谢为一种或一种以上的二烷基磷酸酯化合物（dialkyl phosphate，DAP）并在中毒后 14～48 h 在尿中排出，如磷酸二甲酯（dimethyl phosphrate，DMP），磷酸二乙酯（diethyl phosphrate，DEP），二甲基硫代磷酸酯（dimethyl thiophosphrate，DMTP），二乙基硫代磷酸酯（diethyl thiophosphrate，DETP），二甲基二硫代磷酸酯（dimethyl dithiophosphrate，DMDTP），（diethyl dithiophosphrate，DEDTP）。主要有机磷杀虫剂的二烷基磷酸酯类代谢产物见表 7-3。

表 7-3　有机磷杀虫剂的二烷基磷酸酯类代谢产物

名　称	代谢产物
内吸磷 demeron	DEP，DETP
二嗪农 diazinon	DEP，DETP
敌敌畏 dichlorovos	DMP
乐果 rogor	DMP，DMTP，DMDTP
乙拌磷 disulfoton	DEDTP
甲拌磷 phorate	DEDTP
马拉硫磷 malathion	DMP，DMTP，DMDTP
对硫磷 temephos	DEP，DETP
甲基对硫磷 methyl parathion	DMP
敌百虫 trichlorfon	DMP
保棉磷 methyl azinphow	DMP，DMTP，DMDTP
毒死蜱 chlorpyrifos	DEP，DETP

尿中有机磷二烷基磷酸酯类代谢物经提取衍生后可用气相色谱法分离并测定，最低检出限为2～5 μg/L。

例：取尿液1 mL，加入内标物二丁基磷酸酯(DBP)，加7 mL乙腈，混匀，2 500～3 000 r/min离心10 min，重复提取2次，合并上清液于70℃水浴中用高纯氮吹至0.5 mL，取出后在30℃下缓慢吹至干(高温和氧气存在的环境中含硫代谢物DMTP、DETP不稳定，易氧化)。

在试管中加0.5 mL乙腈溶解残渣，加入无水硫酸钠(约10 mg)、五氟苄基溴30 μL，充入氮气后密封瓶口，置于50℃恒温炉中放置16 h，冷却至室温，取1 μL进样。

GC条件：BP-10毛细管柱(25 m×0.33 mm×0.25 μm)，柱温110℃(1 min)→8℃/min→210℃→20℃/min→280℃(10 min)。火焰光度检测器，检测器温度300℃；进样口温度280℃，载气：氮气，1.0 mL/min。

二、氨基甲酸酯类杀虫剂

氨基甲酸酯类杀虫剂(carbamate insecticide)是目前使用量较大的杀虫剂，主要应用于粮食、蔬菜和水果上。此类杀虫剂大多对高等动物和鱼类毒性低，在生物体和环境中易分解消失，无蓄积作用，杀虫效力强，无残毒。目前我国生产、引进的品种有10多种，主要有呋喃丹、西维因、叶蝉散、涕灭威等。呋喃丹是国内使用较多的杀虫剂，故呋喃丹引起急性中毒的案例较为多见，也有由西维因、涕灭威、灭多威等引发中毒的。文献报道中由氨基甲酸酯类和有机磷组成的混配杀虫剂中毒屡见不鲜。

氨基甲酸酯类是一类新型含氮杀虫剂，基本母体结构式为：

$$R_1{-}O{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}N\begin{matrix}R_2\\R_3\end{matrix}$$

其中R_1多为酚类、芳环或肟类，也有少数是其他基团；R_2和R_3多为甲基和氢。

根据取代基R_1的不同大致可分为：①萘基氨基甲酸酯类(西维因等)；②苯基氨基甲酸酯类(叶蝉散等)；③杂环二甲基氨基甲酸酯类(抗蚜威等)；④杂环甲基氨基甲酸酯类(呋喃丹等)；⑤氨基甲酸肟酯(涕灭威等)。

表7-4列出R_2为CH_3和R_3为H，而R_1有不同取代基的8种氨基甲酸酯类杀虫剂。

表7-4 8种常见氨基甲酸酯杀虫剂的结构、蒸气压和毒性

名称与相对分子质量	别名	R_1取代基	熔点/℃	蒸气压/Pa	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
速灭威(tsumacide) 165.11	MTMC	(3-甲基苯基，CH_3)	76～77	36.8(95)*	498～585
甲萘威(carbaryl) 201.13	西维因	(萘基)	142	0.676(25)	850(雄) 500(雌)
克百威(carbofuran) 221.14	呋喃丹	(H_2C、O、C、H_3C、CH_3 二氢苯并呋喃基)	153～154	0.0029(33)	8～14

续表

名称与相对分子质量	别名	R_1 取代基	熔点/℃	蒸气压/Pa	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
异丙威(isoprocarb) 193.12	叶蝉散	CH_3CHCH_3	96～97	0.133(25) 180℃分解	403～485
仲丁威(bassa,BPMC) 207.13	巴沙	$CH_3CH_2CHCH_3$	32	399.9(130)	410～635
混灭威(hunmiewei) 179.12	灭杀威与灭除威	CH_3 / CH_3			441～1050(雄) 295～626(雌)
灭多威(methomyl) 162.12	灭多虫	$CH_3-C=N-$ (C 上连 SCH_3)	78～79	0.0067(25)	17～24
涕灭威(aldicarb) 190.15	铁灭克	$CH_3-C(CH_3)(S-CH_3)-CH=N-$	98～100	0.013(20) 90℃分解	0.826(雄) 0.6034(雌)

* 括号内为温度，单位为℃。

氨基甲酸酯类杀虫剂的纯品均为固体，多为白色或无色结晶，具有一定的熔点。市售乳油多为浅黄色或黄褐色透明液体，如混灭威、速灭威、仲丁威等；有些原药为白色或红色固体，如甲萘威、速灭威、异丙威等；呋喃丹多为蓝紫色颗粒剂；灭多威、唑蚜威、混灭威原药略带硫磺臭味。

氨基甲酸酯类杀虫剂大多数是极性化合物，水中有一定的溶解度，在烷烃中溶解度小，能溶或易溶于氯仿、乙醚、醇、苯、丙酮、醋酸乙酯、二甲基甲酰胺等极性较强的有机溶剂中。叶蝉散不溶于卤代烷烃，难溶于芳烃。氨基甲酸酯类杀虫剂一般遇碱易分解，对光和酸性物质较稳定，个别品种如巴沙、丁硫克百威、硫双灭多威在强酸介质中易分解。有些品种存在同分异构体，如灭多威、混灭威等。不同品种的氨基甲酸酯杀虫剂的毒性差别较大，多数属中、低毒性，其中毒性很大的涕灭威只能做成颗粒剂用于土壤沟施。

氨基甲酸酯类杀虫剂制剂有原油、粉剂、可湿性粉剂、乳油、颗粒剂、水剂及烟剂。

(一) 中毒症状和体内过程

氨基甲酸酯类杀虫剂中毒后发病快，皮肤接触后 30 min，口服后 10 min 即可发病，多在 30～60 min 出现症状，临床症状与有机磷中毒相似。氨基甲酸酯和有机磷一样，也是一种胆碱酯酶抑制剂，其引发症状的严重程度基本上与红细胞胆碱酯酶活性的抑制程度相平行。与有机磷农药不同的是，氨基甲酸酯与胆碱酯酶结合并非形成真正的化合物，仅是形成一种易于分解的络合物，在适当条件下很容易分解，使胆碱酯酶恢复活性。如果能使受抑制的胆碱酯酶尽快复能，那么临床症状持续时间也会缩短。

氨基甲酸酯类杀虫剂在动物体内吸收快，易分解，排泄也较快，一般在体内无蓄积。氨基甲酸酯类在体内一部分经水解、氧化或与葡萄糖醛酸结合而解毒，一部分以原型或代谢物形式迅速经肾排出。动物经口给药后，

脏器内含量在 15 min 左右达高峰，4 h 后几乎不再能检出，一般在 24 h 内有 80%～90%经代谢转化后以结合物形式经尿液排出。涕灭威在体内氧化代谢生成毒性更大的亚砜类和砜类化合物；西维因则代谢为 4-羟基西维因；残杀威入体后 1 h 即有代谢产物邻异丙氧基苯酚排出。呋喃丹在体内主要代谢产物是呋喃酚，在动植物体内的代谢产物如下：

呋喃丹 → 3-羟基呋喃丹 → 3-酮基呋喃丹
↓ ↓ ↓
呋喃酚 → 3-羟基呋喃酚 → 3-酮基呋喃酚

其中酚类化合物在体内形成结合物或缀合物。呋喃酚较稳定，在死亡时间较久的情况下，往往只能检出呋喃酚而不能检出呋喃丹。

氨基甲酸酯类杀虫剂入体后与胆碱酯酶结合，形成一种疏松的复合体氨基甲酰化胆碱酯酶，然后被氨基甲酰酶水解，多数一级水解为酚和甲基氨基甲酸，肟类则水解为肟和甲基氨基甲酸，酚和肟与硫酸或葡萄糖醛酸等以结合型随尿排出，水解的另一产物甲基氨基甲酸在生物体内不稳定，易水解为二氧化碳和甲胺。水解方式如下：

$$\mathrm{Ar{-}O{-}C({=}O){-}NH{-}CH_3 + H_2O \longrightarrow Ar{-}OH + HO{-}C({=}O){-}NH{-}CH_3 \downarrow CO_2\uparrow + CH_3NH_2}$$

$$\mathrm{(R)(R')C{=}N{-}O{-}C({=}O){-}NH{-}CH_3 + H_2O \longrightarrow (R)(R')C{=}N{-}OH + HO{-}C({=}O){-}NH{-}CH_3 \downarrow CO_2\uparrow + CH_3NH_2}$$

氨基甲酸酯类水解过程

（二）检材采取和处理

氨基甲酸酯类杀虫剂在动物体内吸收、分解和排泄速度快，24 h 后 80%～90%以结合物方式经尿液排出体外。氨基甲酸酯类与有机磷相似，是一种胆碱酯酶抑制剂，但与有机磷抑制胆碱酯酶有所不同，其作用快、恢复也快，一次接触氨基甲酸酯类杀虫剂，血中胆碱酯酶活性在 15 min 降至最低水平，30～40 min 后恢复 50%～60%，60～120 min 后基本恢复正常。因此取材一定要及时。

氨基甲酸酯类杀虫剂吸收后主要分布在血液、肝、肾和脂肪组织，怀疑氨基甲酸酯类杀虫剂中毒死亡者，除应取其上述组织和胃内容物、尿液、血液外，还应采取现场遗留的药瓶和呕吐物等检材。

氨基甲酸酯类杀虫剂的极性较大，提取分离宜选用极性较大的有机溶剂，如乙醚、醋酸乙酯、氯仿、丙酮、乙腈等。呋喃丹选用醋酸乙酯-二氯甲烷（1∶1）或苯回收率较高，也能提取出少量代谢产物呋喃酚。气相色谱法或气相色谱/质谱联用法分析时一般选用不含氯的有机溶剂。

1. 直接提取法　食物、胃内容物、呕吐物、脏器等固体或半固体检材，用无水硫酸钠研磨至干沙状后，用醋酸乙酯、二氯甲烷或二氯甲烷与醋酸乙酯的混合溶剂在超声波中振荡提取 10 min，过滤（若样品中油脂过多，将提取液经中性氧化铝小柱净化），滤液于低温（<60℃）浓缩至一定体积，待检。

2. 液-液萃取法　含水分多的检材或生物组织，匀浆后加 2 倍量的无水硫酸钠脱水，加入乙腈或丙酮提取，在 80℃ 水浴加热

30 min,冷却并过滤,继续用乙腈或丙酮重复上述提取过程,合并滤液,用约 5 倍量的 2% 硫酸钠溶液稀释,然后用氯仿振荡萃取 3 次,合并氯仿提取液,浓缩。

3. 固相萃取法 生物检材中微量氨基甲酸酯类杀虫剂及代谢物可用固相萃取法提取净化,常选用氨基(aminopropyl)固相柱、GDX-403 柱或 C_{18} 键合相作为固定相。中毒者的组织匀浆加 5 倍水搅匀,加 0.1 mol/L 高氯酸沉淀蛋白质,离心,取上清液;血液用 10 倍水或磷酸缓冲液(pH 6.0)稀释;尿液可直接取用。分别通过已活化好的 Sep-Pak C_{18} 固相萃取柱,用 5~10 mL 蒸馏水洗涤萃取柱,以除去弱保留的亲水杂质和色素,挤干或抽干水相,用醋酸乙酯或氯仿洗脱杀虫剂,洗脱液于氮气下吹至近干,残渣用有机溶剂溶解,备检。

4. 酸水解法 多数氨基甲酸酯类杀虫剂水解生成的酚类,在体内形成结合物。检测代谢物时须先经加酸加热水解后,再用二氯甲烷等极性溶剂提取。将检材置入装有冷凝管的容器中,加 3~4 倍量的 0.5 mol/L 盐酸,回流煮沸数十分钟,冷却后用二氯甲烷等溶剂萃取,萃取液经过无水硫酸钠脱水、K-D 蒸发浓缩器中浓缩后备检。如颜色过深,萃取液可先通过少量活性炭净化后浓缩。

（三）检测方法

氨基甲酸酯类杀虫剂的检测方法有:薄层色谱法、气相色谱和气相色谱/质谱联用法、高效液相色谱法和液相色谱/质谱联用分析、酶联免疫吸附分析法(ELISA)等。ELISA 分析需要研制相应的单克隆抗体,国内外已研制出西维因单克隆抗体,但因 ELISA 分析费用较高,在国内不易普及,在此不予介绍。

1. 薄层色谱法 本类杀虫剂的分子中含有酰胺基,可选用聚酰胺板,杀虫剂分子中的氢原子和氧原子可与聚酰胺分子形成氢键,亲和力较强,较用硅胶为吸附剂效果好。也可用硅胶板或纤维素薄层板。

聚酰胺薄层板的制备:14 g 聚酰胺 B-10(含 10%无水硫酸钙),加 60 mL 蒸馏水,铺 5 块 20 cm×20 cm,厚度为 0.25 mm 的薄层板,60~70℃干燥箱中烘 1 h,贮在含有硅胶的干燥器中备用。

因聚酰胺固定相对氨基甲酸酯类杀虫剂结合力强,应选用极性大的展开剂。如用水-甲醇(5∶5);水-甲酸-甲醇(4∶1∶5)或环己烷-丙酮(8∶2)等溶剂展开;吸附剂为硅胶 G 时,展开剂可选四氯化碳-乙醇-丙酮(4∶1∶1);氯仿-醋酸乙酯-己烷(2∶1∶1)或乙醚-苯(1∶3)等溶剂。由于本类杀虫剂的溶解性能多相似,R_f 值的差别不大,但可与其他杀虫剂和杂质分离。

氨基甲酸酯显色反应原理:芳基-*N*-氨基甲酸酯碱性水解后生成的酚类化合物可与重氮盐作用生成偶氮化合物,或与二氯醌氯亚胺作用生成靛酚而显色。五氯酚和其他一些含有酚类结构的农药也能显色。碱水解后生成 α-萘酚的化合物与硝酸铈铵反应生成紫色化合物。涕灭威、灭多威的 R_1 为含硫基团,可用检测含硫有机磷杀虫剂的显色剂显色。

(1) 对硝基苯偶氮氟硼酸盐试剂 先喷以饱和的氢氧化钾乙醇溶液,晾干后喷 0.5%对硝基苯偶氮氟硼酸盐的乙醇溶液。碱水解后有酚产生的氨基甲酸酯类显橘黄、橙红至紫红色,检出限 0.1~0.2 μg。

(2) Gibbs 试剂 先喷以饱和的氢氧化钾乙醇溶液,自然晾干后再喷 2%二氯醌氯亚胺的乙醇溶液。大多数氨基甲酸酯由于形成内酚而呈蓝色,检出限约 0.5 μg。与此试剂缩合的杀虫剂要求在酚羟基对位处没有基团,邻位处不含—CHO、—NO、—NO_2、—COOH 等基团。

(3) 氨基安替比林-铁氰化钾试剂 展开后的薄板先喷以 0.2% 4-氨基安替比林

水溶液使水解，再喷以0.8%铁氰化钾水溶液。酚和α-萘酚型化合物与试剂反应呈红或紫色；β-萘酚型呈绿色。检出限为0.2～1 μg。但也要求酚或萘酚在对位处无其他基团，邻位上不含羟基。如叶蝉散、巴沙邻位上有羟基，则不显色。

（4）硝酸铈铵显色剂　先喷以10%氢氧化钠溶液，再喷以1%硝酸铈铵溶于0.5 mol/L盐酸的溶液，试剂与西维因水解生成的α-萘酚反应显紫色，再喷以10%亚硝酸钠溶液，斑点颜色加深。检测限0.1 μg。不含α-萘酚结构的氨基甲酸酯类不显色。

（5）刚果红-溴试剂　展开后的硅胶G板晾干，置溴蒸气内熏0.5 min进行氧化，挥去多余溴后再喷以刚果红溶液，含硫的涕灭威、灭多威显蓝色斑点，背景桃红色。检测限2 μg。涕灭威的氧化产物亚砜和砜也显色。硫代磷酸酯类杀虫剂也显阳性。

（6）呋喃丹及其代谢产物的薄层色谱分析，可在硅胶GF_{254}或高效硅胶GF_{254}薄层板上用苯-醋酸乙酯（9∶1）、苯-丙酮（9∶1）或己烷-丙酮（4∶1）等溶剂展开。呋喃酚、3-酮基呋喃丹、3-羟基呋喃丹和呋喃丹等可得到较好分离。显色剂可用Gibbs试剂、对硝基苯偶氮氟硼酸盐试剂等；也可喷以0.6%铁氰化钾溶液，斑点显浅紫或浅蓝绿色；喷以甲醛-硫酸试剂显蓝紫至红棕色。

2. 气相色谱法　分析或筛选多种氨基甲酸酯杀虫剂时，一般宜选用极性较弱的固定相，如SE-30；20% OV-101+6% OV-210的填充柱或SE-54、OV-1石英毛细管柱。柱温采取程序升温，用FID或NPD检测。有些氨基甲酸酯杀虫剂热稳定性较差，如涕灭威在90℃即可分解，直接测定时，应尽量降低气化室温度和柱温。分析体内检材中微量涕灭威，可用过氧乙酸将涕灭威氧化成亚砜或砜，二氯甲烷萃取，弗罗里硅土净化，用硫型FPD检测。

定量分析可将氨基甲酸酯杀虫剂标准品配制成20～200 μg/mL的丙酮溶液，用100 μg/mL的苯基-*N*-甲基氨基甲酸酯作内标，进样1 μL，以上述定性分析条件检测，检出限可达1.0×10^{-10} g。

3. 气相色谱/质谱联用法　气相色谱/质谱联用法是分析氨基甲酸酯杀虫剂，特别是它们的代谢产物和同分异构体的重要手段。

有些氨基甲酸酯杀虫剂具有分子立体结构不同的异构体，各基团间距离有差异，分子的极性、挥发性等物理性质不同，因此，气相色谱行为不同，即t_R值不同。但两者分子中原子的连接顺序相同，离子化时裂解方式相同，所以呈现相同的质谱图。常见氨基甲酸酯农药的主要质谱碎片离子列于表7-5中供参考。

表7-5　氨基甲酸酯类杀虫剂质谱碎片离子

杀虫剂名称	分子离子峰	基峰	主要碎片离子
速灭威(tsumacide)	165(小)	108	77,99,58,51
甲萘威(carbaryl)	201	144	115,58,89,127
克百威(carbofuran)	221	164	149,122,131,91
异丙威(isoprocarb)	—	121	136,91,77,103
仲丁威(bassa)	—	121	150,107,91,77
混灭威(hunmiewei)	270	229	189,255,202,226
灭多威(methomyl)	162(小)	105	58,88,59
涕灭威(aldicarb)	—	41	58,86,76,55

方法 1：仪器为四极杆质谱仪；色谱柱为 SE－30MS、SE－54MS 或 HP－5MS 石英熔融毛细柱 30 m×0.25 mm×0.25 μm；温度条件：柱温 60℃（1 min）→15℃/min→230℃（20 min）；进样口温度 250℃；辅助接口温度 280℃。质谱用 EI 源，质量数范围 40～450，全谱扫描或选择离子扫描。可将氨基甲酸酯杀虫剂具有分子立体结构不同的异构体较好的分离。

方法 2：离子阱质谱仪，色谱柱为 DB－5MS 石英熔融毛细柱 30 m×0.25 mm×0.25 μm；温度条件：柱温 80℃（1 min）→15℃/min→280℃（10 min）；进样口温度 260℃；辅助接口温度 280℃。质谱用 EI 源，质量数范围 50～400，全扫描方式。10 种氨基甲酸酯杀虫剂的保留时间（min）分别为：灭多威（5.29）、涕灭威（5.43）、残杀威（7.11）、叶残散（7.03）、呋喃丹（9.03）、速灭威（9.59）、残杀威（11.59）、叶蝉散（11.54）、呋喃丹（13.50）、西维因（15.18）。涕灭威、灭多威在此条件下已完全分解，表现为分解产物质谱峰，且无分子离子峰出现；其余几种杀虫剂则部分分解，均出现两个保留时间不同的色谱峰，但两个色谱峰质谱图不同，分解产物保留时间较原型物短，质谱图上均出现 $[M-58]^+$ 及进一步分解的离子碎片，可证实分解产物为其相应的酚，即由分子中失去—$CONHCH_3$ 而形成。

呋喃丹及其在动植物体内的代谢物，可用四极杆质谱仪，SE－54MS 石英毛细柱，气化室温度 250℃，以程序升温方式检测。呋喃丹与呋喃酚的色谱保留时间有较大的差异，并可与其他几种代谢产物得到较好分离。呋喃丹和呋喃酚的主要质谱断裂途径相似，主要特征离子峰为：164，149，131，122，91，77，39，但呋喃丹的质谱图中有一个比较小的分子离子峰 m/z 221，而呋喃酚的分子离子峰是 m/z 164。

4. 高效液相色谱法和液相色谱/质谱联用分析法　大多数氨基甲酸酯类杀虫剂分子中含有苯环，可用紫外检测器检测，也可用二极管阵列检测器和多通道信号检测。用 ODS 为固定相，适当比例混合的乙腈（20%～60%）-水或甲醇-水（60∶40）为流动相的反相色谱分析，多种氨基甲酸酯类杀虫剂可得到较好分离。正相色谱分析固定相可用—CN 基键合相或—NH_2 基键合相，用以庚烷为主的流动相，加入少量异丙醇调节流动相的溶剂强度。

为了提高检测灵敏度和有效去除样品中杂质的干扰，可采用高效液相色谱分离、柱后衍生-荧光检测法测定氨基甲酸酯杀虫剂及其代谢物。柱后衍生用碱液和 OPA 试剂（ortho-phthaldehyde reagent）。

操作条件示例：

仪器为配有荧光检测器和柱后衍生装置的 HPLC 仪，色谱柱：C_{18} 柱 4.6 mm×25 cm×5 μm；流动相为甲醇-水，梯度洗脱程序：在 0～19 min 时段甲醇比例由 15%调至 80%，流速为 0.5～0.8 mL/min；25～26 min 时段甲醇比例由 80%调至 15%，流速为 0.8～0.5 mL/min。柱温 42℃，柱后衍生条件：碱解反应温度为 100℃，流速 0.3 mL/min，OPA 反应温度为室温，流速 0.3 mL/min。荧光检测器的激发波长 330 nm，发射波长 465 nm，运行时间 30 min。8 种氨基甲酸酯杀虫剂及其代谢物可得到较好分离。见图 7－3。

氨基甲酸酯为极性、不稳定的含杂原子化合物，液相色谱/质谱联用分析时可选用电喷雾电离（ESI）接口或大气压化学电离（APCI）接口。分子中含有叔氨基，可优先考虑使用正离子模式。

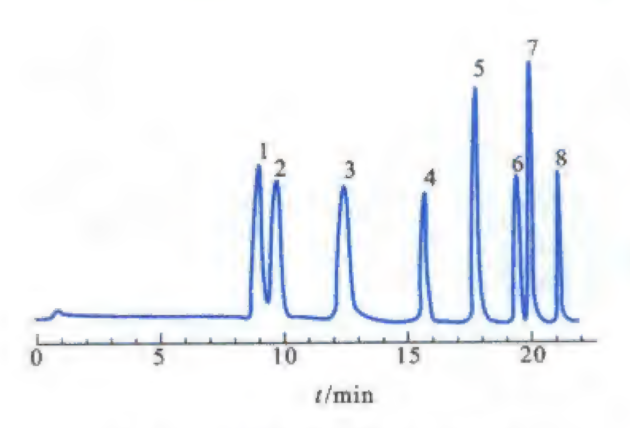


图 7－3　8 种氨基甲酸酯杀虫剂及其代谢物的色谱图

1. 涕灭威亚砜 aldicarb sulfoxide；2. 涕灭威砜 aldicarb sulfoxide；3. 灭多威 methomyl；4. 3－羟基呋喃丹 3－hydroxyl-carbofuran；5. 涕灭威 aldicarb；6. 呋喃丹 carbofuran；7. 西维因 carbaryl；8. 异丙威 isoprocarb

三、拟除虫菊酯类杀虫剂

拟除虫菊酯类杀虫剂（synthetic pyrethroids insecticide）是一类模拟天然除虫菊酯，由人工合成的杀虫剂。此类杀虫剂具有广谱、高效、对高等动物及鸟类毒性较低、光稳定性好且持效长、在自然界容易降解、较少污染等特点。拟除虫菊酯类目前已合成千余种成品，但常用者约 20 余种。1997 年我国开始试制、进口和应用该类杀虫剂，主要用于家庭灭蝇灭蚊虫、棉花、茶叶、果树的病虫害防治等。其中以氰戊菊酯、溴氰菊酯、氯氰菊酯、三氟氯氰菊酯等应用较多。

用单一拟除虫菊酯类杀虫剂中毒致死的案例少见，但这类杀虫剂常与其他种类的杀虫剂混合配制成混配杀虫剂，与有机磷农药混合使用则毒性相应增加（因有机磷抑制拟除虫菊酯类的水解），在毒物检验工作中因用混配杀虫剂引起中毒的事件较为多见。常见混配杀虫剂见表 7－6。

表 7－6　常见含有拟除虫菊酯的混配杀虫剂

名　称	主要成分
20％氧乐氰菊乳油	18％氧乐果、2％氰戊菊酯
10％溴马乳油	0.25％溴氰菊酯、36％马拉硫磷
20％菊杀乳油	6％氰戊菊酯、14％杀螟硫磷
25％甲威氯乳油	甲基对硫磷、灭多威、氯氰菊酯
绿松磷	马拉硫磷、辛硫磷、高效顺反氯氰菊酯
30％胺西氯氰乳油	甲胺磷、西维因、氯氰菊酯

拟除虫菊酯类杀虫剂按其化学结构可分为两类：一类不含 α-氰基，如二氯苯醚菊酯、甲醚菊酯等；一类含 α-氰基，如氯氰菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯、氟氰戊菊酯等，这类杀虫剂活性极高，但毒性也较大。拟除虫菊酯类杀虫剂大多含有苯醚和环丙烷结构及卤素。分子中含有不对称碳原子，故具有各种光学异构体，如氰戊菊酯和顺式氰戊菊酯、氯氰菊酯和顺式氯氰菊酯等。常见的八种拟除虫菊酯杀虫剂见表 7－7。

表 7－7　8 种常见拟除虫菊酯类杀虫剂结构、蒸气压和毒性

名称与相对分子质量	别名	化学结构式	蒸气压/Pa	大鼠口服 LD_{50}/(mg/kg)
二氯苯醚菊酯 (permethrin) 391.1	氯菊酯		$4.5\times10^{-[illegible]}$(25)*	430(雄) 470(雌)
氯氰菊酯 (cypermethrin) 416.2	灭百可		$4.5\times10^{-[illegible]}$(25)	200～800

续表

名称与相对分子质量	别名	化学结构式	蒸气压/Pa	大鼠口服 LD_{50}/(mg/kg)
氟氯氰菊酯 (cyfluthrin) 434.3	百树菊酯			550～750(雄) 1200(雌)
三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin) 449.9	功夫			56～79
溴氰菊酯 (deltamethrin) 505.1	敌杀死		2×10^{-6}(25)	128(雄) 138(雌)
氰戊菊酯 (fenvalerate) 419.9	速灭杀丁		3.7×10^{-5}(20)	300～630
氟氰戊菊酯 (flucythrinate) 451.4	氟氰菊酯		1.16×10^{-6}(25)	81(雄) 67(雌)
甲氰菊酯 (fenpropathrin) 349.3	灭扫利		7.333×10^{-4}(20)	54(雄) 49(雌)

* 括号内为温度，单位为℃

拟除虫菊酯类杀虫剂纯品多为无色或白色结晶，稍有芳香气味。少数品种如氰戊菊酯、氯氰菊酯为黏稠状液体，工业品则多数为黄色至棕色油状液体。常温下挥发性较低。本类杀虫剂极性较小，微溶或不溶于水，溶于乙醇、苯、丙酮、二氯甲烷、氯仿、醋酸乙酯等大多数有机溶剂中，遇酸较稳定，在碱性介质中分解较快。本类杀虫剂剂型多为乳油、粉剂，少数为喷射剂(如顺式氯氰菊酯)、悬浮剂(醚菊酯)。

拟除虫菊酯类杀虫剂属于中低等毒性杀虫剂。对水生动物、蜜蜂、家蚕高毒，对哺乳动物毒性较小，主要是由于药物到达动物体内的敏感区以前，已被代谢或以原药形式排出。但不同入体途径或不同剂型可使毒性有显著差别，如大白鼠口服氰戊菊酯 LD_{50} 为 300～630 mg/kg，经皮吸收 LD_{50} 大于 5 000 mg/kg，而吸入 LD_{50} 则大于 101 mg/m^3。该类杀虫剂有些异构体的毒性也有较大差异，如顺式氯氰菊酯的毒性比反式氯氰菊酯的毒性大得多。

（一）中毒症状和体内过程

拟除虫菊酯与有机磷和氨基甲酸酯杀虫剂不同，与全血胆碱酯酶活性无明显影响，血常规、肝功能、肾功能、电解质可在正常范围。中毒者以神经系统症状为主。口服中毒者消化道症状较明显，以恶心、呕吐、腹泻、腹痛等多见，并伴有流涎、口唇和四肢麻木、肌肉震

颤，重者出现四肢痉挛、惊厥性扭曲、舞蹈样动作、意识不清、昏迷。经呼吸道吸入中毒者，有流泪、结膜充血、流涕、鼻喉部充血、咳嗽等刺激症状。经皮肤中毒者除有全身症状外，可出现皮肤瘙痒、刺痛、烧灼感，重者出现过敏性皮炎。

拟除虫菊酯类杀虫剂可经胃肠道、呼吸道和皮肤吸收，但渗透性较小。吸收后迅速分布于脑和全身各脏器组织中，在体内含量分布，以脑和肝中为最高。含α-氰基的杀虫剂中的氰基在胃中形成硫氰酸盐，在胃内停留较久，大多拟除虫菊酯类原药和代谢产物在体内代谢、排泄甚快，少量杀虫剂以原形从粪便中排出。拟除虫菊酯杀虫剂中毒死亡者的脏器中，杀虫剂原形的含量常甚微。溴氰菊酯由于代谢快，不易从脏器内检出原药。

（二）检材采取和处理

口服中毒时取胃内容物、呕吐物、尿、血、脑、肝、粪便等检材为宜，拟除虫菊酯在体内代谢、排泄快，应尽早作解剖取材，并及时送检。

依据检材性状和实验条件，检材中拟除虫菊酯类杀虫剂的提取方法有直接提取法、液-液萃取法和固相萃取法。

1. 直接提取法　检材绞细或捣碎后，用无水硫酸钠研磨至干沙状，用丙酮或混合溶剂，如苯-二氯甲烷（8：2）或苯-醋酸乙酯（1：1）等浸提，溴氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯用氯仿提取效果较好。面粉、谷类等体外检材可直接用丙酮浸泡 0.5 h 或超声浸提数分钟后，过滤出浸提液，于 60℃ 水浴中挥至近干，残留物用甲醇溶解，待测。

2. 液-液萃取法　检材匀浆后先用丙酮提取，所得提取液中加入 5 倍体积的 2% 硫酸钠溶液混合后用正己烷反复萃取 3 次，合并正己烷，再以 2% 硫酸钠溶液洗涤正己烷萃取液，萃取液脱水后浓缩，必要时做净化处理。

净化时一般将萃取液通过用中性氧化铝、弗罗里硅土或硅藻土等装填的固体吸附柱。常用的淋洗剂有：苯、醋酸乙酯、乙醚-己烷（1：1）或醋酸乙酯-己烷（1：4）。含油脂较多时，宜用弗罗里硅土净化。萃取液或净化淋洗液浓缩后备检。

3. 固相萃取法　拟除虫菊酯类杀虫剂中苯醚和环丙烷结构具有较强的亲脂性。对血、尿中微量拟除虫菊酯类杀虫剂，也可选用 X-5、XAD-2 和 GDX-403 吸附柱或 Sep-Pak C_{18} 柱进行固相萃取。用 Sep-Pak C_{18} 小柱时，先将待分析的血、尿用 70% 甲醇水溶液稀释 10 倍后，注入经预处理过的小柱中，水洗以除去弱保留的亲水杂质，再用氯仿或醋酸乙酯洗脱杀虫剂，回收率可达 80% 以上。

（三）检测方法

1. 薄层色谱法　吸附剂用硅胶 G 或硅胶 GF_{254}。展开剂宜选用弱极性的正己烷为基础，用中等极性的有机溶剂调节极性。例如用己烷-苯（45：55）、己烷-乙醚（5：1）、己烷-乙醚-甲酸（70：30：1）等展开剂可将常见的几种拟除虫菊酯类杀虫剂分离开。由于市售杀虫剂在存放过程中易被氧化、分解，合成过程中药物中间体的存在，各种光学异构体等因素，氯氰菊酯、氰戊菊酯、二氯苯醚菊酯在上述条件下常有多个斑点出现，分析时须与当地对照品同时分析比较方可得出正确结论。

拟除虫菊酯类杀虫剂的分子中有发色团和助色团，能吸收紫外光，于硅胶 GF_{254} 板上点样展开后，在 254 nm 的紫外灯下可见亮绿色的荧光背景上有暗色斑点。也可将展开后的薄层板挥去溶剂后用以下方法显色：

（1）邻联甲苯胺试剂　薄层板上喷 0.5% 邻联甲苯胺乙醇液，含氯杀虫剂显绿色，背景白色，灵敏度 3～5 μg。

（2）高锰酸钾-溴试剂　薄层板喷以 0.8% 高锰酸钾水溶液，背景紫红色，斑点显浅黄色。将薄层板置于溴蒸气中熏约 1 min 后，黄色斑点颜色加深。再喷以 0.4% 刚果红乙醇液，背景棕红色，斑点显蓝色。灵敏度 0.5～5 μg。有还原性的物质都能被高锰酸

钾氧化而显色。拟除虫菊酯类显色灵敏度较低，经溴熏后，颜色加深。喷以刚果红试剂后，斑点颜色不易褪去，可存放多日。

（3）硝酸银试剂 喷以0.5%硝酸银氨性溶液，再用紫外光照射5 min，含卤素的拟除虫菊酯杀虫剂呈灰至棕色斑点，背景白至浅灰色。灵敏度3～5 μg。

2. 气相色谱和气相色谱/质谱联用法

拟除虫菊酯类杀虫剂的分子多相似，进行气相色谱分离时，固定液的极性对混合拟除虫菊酯的出峰顺序影响较大。若用毛细管色谱柱，则可使一些异构体也能得到分离，柱温一般控制在190～235℃。此类杀虫剂分子结构中大多含有卤素、氰基等电负性强的原子或基团，用^{63}Ni－ECD检测器的检测灵敏度高，最小检出量可达1×10^{-11} g。

有的拟除虫菊酯杀虫剂中含有几何异构体和光学异构体，一种杀虫剂在色谱分析中常出现多个色谱峰，给定性分析带来困难。

操作条件示例：

拟除虫菊酯类与有机磷混配杀虫剂中毒时有报道，同时分析检材中这两类杀虫剂，用固相萃取法结合GC或GC－MS可得到较好的分离分析效果。

固相萃取一般选用Sep-Pak C_{18}柱，用醋酸乙酯洗脱，收集洗脱液，用吸管除去底部少量水层，有机层置于氮气下吹干，加入内标液，取1 μL进样分析。

例如，用HP－5890A型气相色谱仪，FID检测器，HP－17毛细管柱（10 m×0.53 mm×2.0 μm）。色谱条件：柱温150℃→15℃/min→250℃，汽化与检测器温度分别为250℃和280℃。拟除虫菊酯类与有机磷类保留时间（min）从短到长依次为：内吸磷、乐果、对硫磷、甲醚菊酯、甲氰菊酯、三氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯。氰戊菊酯为双峰。

用GC－MS或GC－MS－MS检测可排除在GC中对保留时间相似物质的错误判断。例如，用离子阱质谱分析甲氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯。气相色谱条件：HP－5毛细管柱，30 m×0.25 mm；进样口温度260℃，柱温200℃→20℃/min→290℃（8.5 min），载气为高纯氦气，柱流量1.0 mL/min。离子阱质谱仪条件如下：阱温180℃，歧管温度40℃，传输线280℃；全谱扫描，扫描范围40～520。表7－8列出了常见拟除虫菊酯类杀虫剂质谱主要碎片离子。

色谱柱为HP－5，30 m×0.25 mm×0.25 μm；进样口温度260℃，柱温200℃→20℃/min→290℃（8.5 min），载气为氦气，柱流量1.0 mL/min，^{63}Ni－ECD检测器。四种杀虫剂的保留时间（min）分别为：甲氰菊酯5.8；氯氰菊酯8.5、8.6、8.8；氰戊菊酯10.2、10.6；溴氰菊酯11.8。

表7－8 拟除虫菊酯类杀虫剂质谱主要碎片离子

杀虫剂名称	分子离子峰	基峰	主要碎片离子
二氯苯醚菊酯(permethrin)	390	185	165,77,91,127
氯氰菊酯(cypermethrin)	415	165	181,91,77,61,127
氟氯氰菊酯(cyfluthrin)	—	165	206,91,77,199,127,226
三氟氯氰菊酯(cyhalothrin)	449(小)	181	197,208,141,77
溴氰菊酯(deltamethrin)	505	253	181,93,172,77,208
氰戊菊酯(fenvalerate)	419	125	167,225,181,152
氟氰戊菊酯(flucythrinate)	451	199	157,181,107,77,55
甲氰菊酯(fenpropathrin)	349	97	55,101,43,125,83

3. 高效液相色谱法　拟除虫菊酯杀虫剂分子中含有苯醚结构，选用紫外检测器。用正相色谱或反相色谱分析均可。反相分析常用C_{18}柱，以不同配比的甲醇-水作流动相；正相可用氨基键合相柱，己烷中加入乙醚、异丙醚等作流动相。若用液相色谱/质谱联用分析，可选对含氯、溴和多个羟基检测灵敏度高的负离子模式。内标可选用邻苯二甲酸的酯类。

高效液相色谱分析拟除虫菊酯杀虫剂，也需注意一种原药中出现几种异构体色谱峰的现象。

操作条件示例：

高效液相色谱柱：Spherisorb C_{18}柱，25 cm×4.6 mm，粒度 5 μm，柱温：室温，流动相：甲醇-水(80∶20)，流速 1.0 mL/min，进样量 20 μL，紫外检测波长 225 nm。5 种拟除虫菊酯杀虫剂的保留时间(min)分别为：除虫菊素 16.623；氰氰菊酯 17.575、19.325；溴氰菊酯 20.42；氰戊菊酯 22.792；氯菊酯 29.57、38.172。

四、杀虫双和杀虫脒

(一) 杀虫双(杀虫单)

杀虫双为我国研制的农用杀虫剂，属仿生型沙蚕毒素类农药，具有高效、低残留、杀虫谱广的优点。

杀虫双产品有两种形式，当水溶液的pH为6.5～7时，主要成分是单钠盐(杀虫单)；pH为8～9时，主要成分是双钠盐(杀虫双)。两者具有同样的杀虫作用和毒性，其化学结构式如下：

$$(CH_3)_2N-CH(CH_2SSO_3Na)(CH_2SSO_3Na(H))$$

杀虫双纯品为白色结晶，极易溶于水，易吸潮。熔点 169～171℃(分解)，1%的水溶液 pH 约 8.5。杀虫单纯品为白色结晶，不易吸潮，熔点 142～143℃(分解)，易溶于水。杀虫双和杀虫单均可溶于乙醇、甲醇、二氯甲烷、二甲基甲酰胺、二甲基亚砜等有机溶剂。微溶于丙酮，难溶于醋酸乙酯及乙醚。

市售商品大多为颗粒剂或是 pH 6～8 的水剂，pH 7 左右的水剂中是以杀虫单为主，习惯上统称为杀虫双。杀虫双中主要杂质是它的同分异构体，毒性小，其化学结构式为：

$$(CH_3)_2N-CH_2CH(SSO_3Na)CH_2SSO_3H$$

一般在 25%的水剂中异构体约占三分之一，有效体含量只有 15%～20%，在用杀虫双市售商品做对照品分析时，要注意杀虫双与异构体的区别。

杀虫双为中等毒性杀虫药，纯品对雄性大鼠急性经口的 LD_{50}为 451 mg/kg；经皮毒性小，小鼠经皮 LD_{50}大于 2 062 mg/kg。随着杀虫双在我国的大面积使用，人急性中毒已有发生，且多为经口中毒。

1. 中毒症状和体内过程　杀虫双经口入体其中毒潜伏期较短，约 30 min，短者 10～15 min，长者也只在 2 h 左右。轻、中度中毒主要表现为头昏眼花、心悸、乏力、出汗、流涎、面色苍白、肌束震颤等神经中毒症状和恶心、呕吐、腹痛等消化道症状。严重中毒则表现为：烦躁不安，全身肌肉抽动，抽搐和昏迷，瞳孔缩小，对光反应迟钝，并可因呼吸肌麻痹致呼吸衰竭。

杀虫双在动物体内吸收、分布、代谢转化和排泄都较快，不易在体内蓄积。杀虫双进入体内迅速转化成沙蚕毒素，继而在 S 原子上甲基化和氧化，并在二甲胺部分进行水解，主要代谢物为沙蚕毒素和二甲基沙蚕毒素，代谢物主要以游离形式排出体外。杀虫双可能的代谢途径如下：

$$(CH_3)_2N-CH(CH_2SSO_3Na)(CH_2SSO_3Na(H)) \longrightarrow (CH_3)_2N-CH\begin{matrix}CH_2S\\ |\\ CH_2S\end{matrix} \longrightarrow (CH_3)_2N-CH(CH_2SCH_3)_2 \longrightarrow (CH_3)_2N-CH(CH_2\overset{O}{\overset{\|}{S}}CH_3)(CH_2SCH_3)$$

$$(CH_3)_2N-CH(CH_2SCH_3)_2 \downarrow C(CHSCH_3)(CHSCH_3)$$

有报道，大鼠经口灌胃杀虫双 1 min 后，大鼠胃中杀虫双总量(杀虫双及 2.38 倍的沙蚕毒素之和)与给药量相当，而此时约 30%杀虫双转化成沙蚕毒素，灌胃 5 min，胃中杀虫双含量为给药量的 41.3%，胃中沙蚕毒素总量为给药量的 68.6%，给药 1 h 后，胃中未检出杀虫双及沙蚕毒素。结果表明，杀虫双在胃中转化和消除呈动态平衡，此现象为杀虫双的代谢特征。杀虫双在体内分布以肾最高，其次是肝、脾、肺、心、脑，主要经尿液排出。

2. 检材采取和处理　对中毒者可收集呕吐物、剩余的食物等。中毒死亡者还应收集其胃内容物、血、尿液、肾及其他脏器等。

血液或匀浆的脏器组织可加适量水后用甲醇、氯仿或二氯甲烷-异丙醇(9：1)提取，也可加无水硫酸钠研磨成干沙状后，用上述溶剂萃取，提取液过中性氧化铝柱净化。胃内容物可加 2 倍体积的甲醇浸泡 30 min 后离心，上清液用氯仿提取，氯仿层溶液通过无水硫酸钠、中性氧化铝和活性炭柱净化，以氮气将氯仿层吹干或水浴浓缩后待检。

3. 检测方法　杀虫双的检测方法有化学分析法、高效薄层色谱法、气相色谱法和气相色谱/质谱联用分析法。

(1) 化学分析法　化学分析法灵敏度低，仅适用于含量较高的体外检材。

① 硫氰酸铁反应　常温下，杀虫双与碱金属氰化物作用，很快转化成硫氰酸盐。后者与三氯化铁反应，生成红色硫氰酸铁络合物。

检液若为酸性，应先加碱使成碱性，取检液少许加一滴 1% $FeCl_3$ 溶液摇匀，再加一滴 10% NaCN 溶液，摇匀后几秒钟，如有杀虫双，溶液显红色。检测限 20～25 μg。

② 间苯三酚-硫酸显色法：取检液数滴放入小试管中，加 2～3 滴浓硫酸，强热约 0.5 min。冷却后，加 5 滴 1%间苯三酚乙醇溶液，在酒精灯上再加热约 0.5 min，若有杀虫双，溶液由无色透明转为橘红色。检测限 15～20 μg。

(2) 薄层色谱法　用高效硅胶薄层板，展开剂可用氯仿：甲醇(9：1)、甲醇-醋酸乙酯(5：4)、甲醇-氯仿-正己烷(6：3：1)或环己烷-丙酮(4：1)。

薄层板展开后，喷以钙黄绿素-氯化钯试剂，使其形成具有荧光的物质，在紫外灯下观察定位，用 TLC 扫描仪测定斑点荧光强度，杀虫双和沙蚕毒素的检测限分别为 11.9 ng 和 5.0 ng。

杀虫双和杀虫单分子结构中均含有硫，可用检测硫的显色剂如：二氯醌氯亚胺-溴、氯化钯、溴-刚果红或溴酚蓝-醋酸等显色剂进行显色。

① 二氯醌氯亚胺-溴法　展开后的薄板稍晾干，喷以 1%二氯醌氯亚胺乙醇试剂，稍热烤，于溴蒸气中熏 1 min 左右，含硫的杀虫双或杀虫单即显黄色，背景无色。检测限 5 μg。

② 溴-刚果红法　将薄层板置溴蒸气中熏 0.5 min，取出，挥去多余溴(一定要挥尽，否则背景为蓝色)，再喷以刚果红溶液。含硫的杀虫双或杀虫单即显蓝色斑点，背景桃红色。检测限 0.2～5 μg。本法对油脂等杂质也显色。

(3) 气相色谱法和气相色谱/质谱联用法杀虫双的代谢产物、同分异构体的分析常采用气相色谱法和气相色谱/质谱联用法。杀虫双分子中含有硫，气相色谱法分析可选硫型 FPD 检测器。色谱柱：OV－101 石英毛细柱；柱温：50℃（1 min）→20℃/min→120℃→5℃/min→200℃（10 min）；检测器和进样口温度 230℃。杀虫双不能汽化，此条件下检不出杀虫双原体，人血和胃样品中检出杀虫双的代谢产物沙蚕毒素和含硫的代谢物，沙蚕毒素的保留时间为 9.96 min，含硫化合物保留时间为 11.99 min。

GC－MS 分析条件为：SE－54 毛细管柱，流动相为高纯氦气，柱前压 8 psi，程序升温同 GC 分析，电离方式为 EI，轰击电子能量70 eV，倍增器电压 1 225 V，发射电流 0.25 mA，进样量 1 μL。

GC－MS 可鉴定出六个组分，其中两对为杀虫双的同分异构体，还有杀虫双的代谢产物沙蚕毒素和二甲基沙蚕毒素，二甲基沙蚕毒素色谱峰相对较低。沙蚕毒素特征离子质荷比为 149（分子离子峰）、70（基峰）、103、110、52；二甲基沙蚕毒素特征离子质荷比为 179（分子离子峰）、118（基峰）、105、71.1、56、44。

(二) 杀虫脒

杀虫脒（chlordimeform hydrochloride）又名克死螨、氯苯脒等。是一种有机氮杀虫及杀螨剂，主要用于防治水稻、棉花、柑橘等多种害螨，养蜂业上也用于蜂箱杀螨。杀虫脒对人体有致癌、致畸等危害作用，在植物体上高残留，国家已明文禁止生产使用，但因其杀螨能力强，在某些地区使用还较广泛。

杀虫脒为氯苯脒盐酸盐，结构式为：

$$(CH_3)_2N-CH=N-C_6H_3(CH_3)-Cl \cdot HCl$$

杀虫脒相对分子质量 233.15，纯品为白色片状结晶，工业品为淡黄色结晶，易溶于水和醇，难溶于其他有机溶剂。氯苯脒微溶于水，易溶于氯仿、醋酸乙酯、石油醚、苯-丙酮（1∶1）混合溶剂。在弱酸、弱碱中易水解破坏。市售商品为含杀虫脒 25% 或 50% 的水剂或粉剂、氯苯脒乳油。

杀虫脒为中等毒性杀虫剂，大鼠急性经口 LD_{50} 为 340～490 mg/kg，大鼠经皮 LD_{50} 为 2 600 mg/kg。杀虫脒可经消化道、呼吸道、皮肤入体。其潜伏期较短，口服后 1 h 左右发病，主要表现为意识障碍、发绀、出血性膀胱炎三大综合征。多死于心功能衰竭。

在使用杀虫脒时，有防护不当经皮引起中毒的，服毒自杀者少见，因过失或故意使养蜂业生产受损害的事件时有发生。

1. 检材采取和处理　杀虫脒入体后，在体内的含量分布依次为：肝、肾、肺、脾、脑、心、胰、脂肪。主要代谢产物为对氯邻甲苯胺。对中毒者可收集呕吐物、中毒者剩余的食物等。中毒死亡者应收集呕吐物、胃内容物及血液，尿液、肝、肾及其他脏器等亦可作为检材。

生物检材、胃内容物及含水较多的检材中杀虫脒的提取方法：将杀虫脒碱化后析出的氯苯脒用适当的有机溶剂（如氯仿、石油醚）提取 3 次，提取液经中性氧化铝或硅镁吸附剂及活性炭柱净化、脱色；也可用稀酸液反提有机溶剂中杀虫脒而杂质留在溶剂中，酸液再碱化，用有机溶剂提取氯苯脒。提取液经浓缩、定容后备检。

2. 检测方法　杀虫脒的检测方法有化学分析法、薄层色谱法和气相色谱法。

(1) 化学显色法　可作筛选试验。

① Nessler 试剂反应　取检液 1 滴于白瓷板上，加 Nessler 试剂 1 滴，立即出现白色沉淀，1 min 后变为黄色沉淀，示有汞氨复合物。灵敏度 1～2 μg。铵盐或能分解产生氨的化合物皆有此反应。

② 对二甲氨基苯甲醛试验　取1滴含杀虫脒的醇溶液或水溶液置白瓷板或滤纸上，加1滴0.3%对二甲氨基苯甲醛乙醇溶液，结果呈黄色，示含有苯胺基化合物。

(2) 薄层色谱法　吸附剂用硅胶G或硅胶GF_{254}，展开剂可用甲醇-乙醇(1∶1)，R_f值为0.6；醋酸乙酯-氯仿-环己烷(1∶2∶2)，R_f值0.7；环己烷-丙酮(9∶1)，R_f值0.5。

杀虫脒分子中含有机氮，碘化铋钾试剂喷雾后显橙色斑，背景为黄色。四氯化碳的碘饱和溶液喷后显棕黄色斑，背景为白色。用硅胶GF_{254}板，在254 nm紫外灯下观察，杀虫脒斑点处无亮绿色荧光。

(3) 气相色谱法　可采用6% SE-54、0.3% OV-17+3% OV-201、5%聚乙二醇-20 M+3% OV-17等填充柱，也可选用HP-5大口径石英毛细管柱10 m×0.53 mm×2.65 μm。柱温190℃，气化室温度230℃。检测器温度250℃。氮磷检测器或火焰离子化检测器。气相色谱分析可使氯苯醚与中间体N-(邻-甲苯基)-N'，N'-二甲基甲脒、异构体很好地分离。

第二节　除草剂

一、百草枯

百草枯(paraquat)又名对草快、克芜踪，化学名称为1,1'-二甲基-4,4'-联吡啶阳离子或其盐(氯化物、溴化物或硫酸甲酯)，化学结构如下所示：

$$\left[CH_3-\overset{\oplus}{N}\langle\ \rangle-\langle\ \rangle\overset{\oplus}{N}-CH_3\right]\begin{matrix}\cdot 2Cl^{\ominus}\\ \cdot 2Br^{\ominus}\\ \cdot 2CH_3SO_4^{\ominus}\end{matrix}$$

百草枯1962年开始作为速效灭生性触杀型除草剂广泛使用。原药为白色或黄色固体，300℃分解，易溶于水，微溶于低级醇类，不溶于烃类。其二硫酸钾酯盐具有相同的性质，二氯化物和二硫酸甲酯盐在酸性条件下都稳定，但可被碱分解。原药为15%、20%水剂，15%水剂为灰黑色水溶液，供家庭用的是5%二氯化物粉剂，农业上用作除草剂则是10%～30%氯化物水剂。不易燃、不易爆，20℃时pH 7.0±0.5。

百草枯属中等毒性农药，其二氯化物大鼠急性经口LD_{50}为150 mg/kg，硫酸甲酯大鼠急性经口LD_{50}为210～307 mg/kg，人口服致死量为1.0～3.0 g，最小致死血浓度为1.2 mg/L，肝组织最小致死浓度为0.2 mg/kg。由于百草枯广泛用于橡胶、甘蔗、果园、茶园、林业、农田除草，原药易得，国外早有百草枯他杀投毒致死的案例报道，近年来用百草枯投毒致经济型农作物大片枯死及人、畜中毒的案例呈上升趋势。

(一) 检材采取与处理

百草枯可通过皮肤黏膜、胃肠道和呼吸道吸收，其吸收速度较快。吸收百草枯后48 h内，有90%以原体形式由尿排出，长达3周后仍能检出。百草枯的毒性作用一是对皮肤黏膜的刺激和腐蚀性损害，二是吸收后对肺、肝、肾等多器官的损害，特别是肺泡细胞对百草枯具有主动摄取和蓄积作用，故在肺中浓度较高，肺受损害最突出且严重。百草枯中毒致死检材采取除了常规取血、尿、内脏、脑和现场收集到的可疑容器外，要特别注意提取肺作为检材。皮肤接触中毒者取局部皮肤。

百草枯极性强，属水溶性化合物，对于含量较大的检材可用透析法分出百草枯，取透析液高温浓缩后供检。对百草枯含量甚微的体内检材，常采用蛋白质沉淀剂来消除蛋白质的干扰，一般采用10%的三氯醋酸沉淀蛋白质。酶解法去除蛋白质效果也较好，常用的酶有：β-葡萄糖醛酸苷酶、糜蛋白酶、枯草净酶、蛋白酶K等。提取方法有固相萃取法

和液-液萃取法。

1. 固相萃取法　百草枯极性强，结构中含有离子对，与一般的固相萃取材料如苯乙烯-二乙烯苯共聚物 Amberlite 系列中的 XAD-2、XAD-4 及 Sep-Pak C_{18}和 C_8 结合吸附牢固，较难洗脱，用离子对试剂处理固相柱后可减弱这种吸附，提高萃取效率。常用的离子对试剂有：碱性十六烷基三甲基溴化铵、碱性十二烷基三甲基溴化铵、碱性十二烷基硫酸钠、碱性庚烷磺酸钠等。也可选用阳离子交换固相柱，如 Dowex AG5W、Oasis® MCX 固相萃取小柱等。洗脱液一般用酸性或碱性甲醇。

方法 1：将活化好的 C_8 柱用 5 mL 碱性十二烷基三甲基溴化铵溶液(50 mg 十二烷基三甲基溴化铵溶于 100 mL 水中，再加 0.5 mL浓氨水)处理。尿(血)液 1 mL 或匀浆组织 1 g，用 2 mL 超纯水涡旋混匀，用缓冲溶液调溶液 pH 至 4.8，加 4 000 单位的糜蛋白酶或 β-葡萄糖醛酸苷酶在 56℃水浴中酶解 2 h，放冷后加 4 mL 超纯水涡旋混匀，离心，取上清液，如此重复两次，合并上清液并加超纯水至 10 mL，再加 2 mL 浓氨水，混匀。过预处理过的固相柱，用超纯水洗涤杂质，酸性甲醇洗脱百草枯，洗脱液于 60℃水浴用氮气流吹干，待测。

方法 2：血液 1 mL 或匀浆组织 1 g，以 4 倍体积蒸馏水稀释，涡旋混合，8 000 r/min 离心 20 min，上清液过 Oasis® MCX 阳离子固相萃取小柱(预先用 1 mL 甲醇，1 mL 水活化平衡)，以 1 mL 50%甲醇水溶液淋洗杂质，弃去，精密吸取 1 mL 含 1 mol/L 氯化铵的 50%甲醇液洗脱待测物，洗脱液涡旋混合，过 0.4 μm 微孔滤膜，取 20 μL 进样进行高效液相色谱分析。

2. 液-液萃取法　血液 1 mL 或匀浆的脏器组织 1～2 g，加 0.1 mol/L 的 HCl 0.2 mL，摇匀，加氯仿约 2 mL，充分振摇，4 000 r/min 离心 5 min，取氯仿层，用氮气流吹至 0.5 mL，气相色谱或气相色谱/质谱联用分析。

（二）检测方法

1. 碱性连二亚硫酸钠反应　百草枯在碱性连二亚硫酸钠中被还原为蓝色自由基，其在 600 nm 处有最大吸收，灵敏度 0.5 μg。将提取液 2～3 mL 至具塞试管中，加入用 0.1 mol/L 氢氧化钠新配的 1%连二亚硫酸钠溶液 0.5 mL，轻轻倒转 3 次(不要剧烈摇动，以免氧化而退色)，含百草枯的检液呈蓝色(敌草快呈苹果绿色)。对尿液可直接进行分析。也可取检材提取液 2 mL，加碳酸氢钠 0.1 g，再加连二亚硫酸钠 0.1 g，含百草枯的检液呈蓝色。百草枯的还原产物在 600 nm 处测定吸光度，敌草快的还原产物在 770 nm 处测定吸光度。百草枯含量为 0.5～25 μg 时符合比尔定律。

2. 薄层色谱法　薄层板：硅胶 G 或 GF_{254}板；展开剂：①甲醇∶水∶盐酸(3∶2∶1)；②乙醇∶盐酸(1∶0.1)。显色剂：百草枯结构中含有机氮，喷雾碘化铋钾试剂，百草枯显红色斑点。R_f 值分别为 0.45 和 0.50。

3. 气相色谱/质谱联用法　百草枯极性很强，用 GC 难以分析，用气相色谱/质谱联用法对百草枯的检测限可达 10 ng。血清 1 mL，加 0.1 N 的 HCl 0.2 mL，摇匀，加氯仿约 2 mL，充分振摇，4 000 r/min 离心 5 min，取氯仿层，用 N_2 吹至 0.5 mL，进样量 1 μL。

气相色谱/质谱分析条件为：HP-5MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm 毛细管柱，气化室温度 250℃，载气为氦气，柱流量 1.0 mL/min，恒流；进样口温度 230℃，接口温度 280℃，柱温 150℃(2 min)→10℃/min→260℃(2 min)→20℃/min→280℃(5 min)。质谱条件：EI 源，电离电压 70 eV，质量数范围 30～450 amu，溶剂延迟 3 min，分流比 5∶1。百草枯保留时间 5.6 min，质谱图基峰质荷比为 156。

4. 高效液相色谱法　高效液相色谱法

是分析百草枯的常用方法。百草枯结构中含有两个苯环，在紫外区有强吸收，一般采用反相色谱法和紫外检测器。但普通反相 C_{18} 柱上裸露的硅羟基易与季铵盐类化合物发生作用，产生严重拖尾，因此很难用简单的流动相组成分析百草枯。通常添加一些氨类改性剂和离子对试剂，同时调整 pH 至很低，如 pH 2～4。

例：使用紫外检测器 254 nm，μ Porasil 柱(30 cm×4 mm)及异辛烷-三氯甲烷-二氧六环(10.4∶2.5∶1.0)为流动相。或在 259 nm 使用 Symmetry ShieldTM RP_{18} 柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)及保护柱(3.9 mm×20 mm)，流动相：乙腈-25 mmol/L辛烷基磺酸钠(45∶55)，流速 1 mL/min。或选用 Shim-pack(4.6 mm×150 mm)CLC-ODS 分析柱及 C_{18} 保护柱(4.6 mm×20 mm)，流动相：0.1 mol/L 磷酸缓冲液含 75 mmol/L 庚烷磺酸钠-乙腈(9∶1)，用二乙胺调 pH 至 4.0，流速 1 mL/min，检测器波长 258 nm。高效液相色谱法分析百草枯在 0.05～500 μg/mL 范围内在全血提取物中线性关系良好，以信噪比≥3 计，百草枯检出限为 1～5 ng/mL。

二、五氯酚钠

五氯酚(pentachlorophenol，PCP)的钠盐五氯酚钠(PCP-Na)属酚类除草剂，同时具有木材防腐、消毒和灭杀钉螺等作用，对人、畜和鱼类有较大毒性。五氯酚钠中毒有以下几种形式：在使用五氯酚钠除草和灭螺时，有不注意防护通过皮肤接触或误饮被其污染的水而引起中毒的；有误用含有五氯酚钠的药物治疗银屑病而中毒死亡的；有过失或用其自杀的；故意投放五氯酚钠入鱼池使养鱼业生产受损害的事件近几年报道较多。

五氯酚钠结构式为：

五氯酚钠纯品为白色针状结晶，工业生产的原粉为淡红色鳞片状结晶，有刺激性特殊臭味，易溶于水和甲醇，水溶液显碱性。五氯酚钠水溶液加酸即析出五氯酚。五氯酚纯品为无色针状晶体，相对密度(比重)1.978，熔点 190℃～191℃，具有极弱的酸性，100℃时的蒸气压为 16 Pa，能随水蒸气挥发。易溶于大多数有机溶剂，难溶于水。五氯酚和五氯酚钠在光照下易变质。

五氯酚钠属中等毒性农药，纯品对大鼠急性经口 LD_{50} 为 126～166 mg/kg。五氯酚对鱼类的毒性很强，水中含量达0.1～0.2 mg/L 即可使鱼死亡；对人的致死量约 2 g。

五氯酚及五氯酚钠均可经消化道、呼吸道入体，也可经皮肤吸收；入体后随血流分布于各脏器，大多随尿液排出。五氯酚钠急性中毒者，起病急骤，往往在接触药物后几小时内即可出现中毒症状，且病情变化快。中毒者常出现全身软弱、无力、下肢沉重，且进行性加重，直至卧床不起。显著病症为体温上升可高达 40℃以上，大汗淋漓，以夜间为甚，同时可出现口渴、心悸、呼吸加快、面色潮红等症状。经消化道入体者有恶心、呕吐、腹痛、腹泻等胃肠道症状。重度中毒者可出现失水、酸中毒、昏迷、抽搐及肺水肿、循环衰竭等，可于数小时内死亡。五氯酚钠中毒或中毒死亡者可根据入体途径采取尿、血、胃内容物、胃、肾或其他组织为检材。

(一) 检材处理

五氯酚呈弱酸性，在酸性情况下用苯、氯仿等有机溶剂萃取。也可将检材碱化后用水浸提五氯酚钠，滤取水液，加酸呈酸

性，再用乙醚、苯等有机溶剂萃取，萃取液经脱水后挥干待检。也可先在酸性条件下用有机溶剂萃取，萃取液用碱水反提，水层酸化后再用有机溶剂萃取五氯酚。还可加酸后用水蒸气蒸馏法分离，馏液用乙醚或苯萃取五氯酚。提取液经脱水、脱色、挥干后残渣待检。

（二）检测方法

五氯酚的分析有化学显色法、薄层色谱法、紫外分光光度法、GC－MS 和 HPLC 法等。

1. 化学显色法　萃取液挥干物加蒸馏水和 1% Na_2CO_3 调节 pH 为 8～10，溶液供试。

（1）硫酸铜反应　溶液加 10% $CuSO_4$ 溶液数滴，如有五氯酚钠或五氯酚存在即生成褐红色的五氯苯酚铜，灵敏度 1.0 μg。

（2）4－氨基安替比林－铁氰化钾反应　酚类化合物可与重氮盐氨基安替比林作用生成偶氮化合物，与铁氰化钾进一步反应生成蓝色化合物。溶液加入 0.2% 4－氨基安替比林溶液及 10%铁氰化钾溶液，混匀，水层呈绿色。再加二甲苯适量，振摇，如有五氯酚钠或五氯酚存在，二甲苯层呈蓝色，灵敏度 1.0 μg。苯酚和甲苯酚产生红色，其他一些酚类化合物也有反应。

（3）藏红花反应　五氯酚在 pH 9～10 的碱性条件下与藏红花生成五氯酚藏红花络合物，在 520 nm 下有最大吸收。

碱性藏红花显色液：0.2%藏红花溶液与等量饱和碳酸钠溶液混匀。

苯或醋酸异戊酯提取液加 2 mL 蒸馏水，再加 3 mL 藏红花显色液，振摇 10～20 次，静止 5 min，弃去水层，吸取苯提取液于比色皿中，在 520 nm 波长下比色测定，同时作空白及标准曲线进行定量测定。

2. 薄层色谱法　五氯酚极性较大，可选用极性较大的展开剂。当吸附剂为硅胶 G 时，用氯仿－丙酮（9∶1）或环己烷－丙酮（4∶19）展开。在 1%硼酸或 1%草酸制备的酸性硅藻土 G 板上，用苯、氯仿为展开剂，可不出现拖尾现象；若用己烷为展开剂，五氯酚可与多种有机氯杀虫剂分离。

斑点可用 10%硫酸铜和 0.5%邻联甲苯胺显色方法显色。展开后的薄层板稍晾干，喷 0.5%邻联甲苯胺乙醇溶液后，于日光或紫外灯下照射数分钟，如有五氯酚或其他有机氯杀虫剂，则显蓝色斑点，背景白色；此薄层板再喷 10%硫酸铜溶液，如有五氯酚则斑点呈红褐色，其他有机氯杀虫剂不显色。灵敏度 0.3 μg。

3. 紫外分光光度法　五氯酚乙醇溶液的吸收峰为 295 nm（$E_{1\%}^{1cm}=89$）和 303 nm（$E_{1\%}^{1cm}=115$），碱性水溶液中的吸收峰为 319 nm（$E_{1\%}^{1cm}=194$）。可用作定性鉴别与含量测定。

4. 气相色谱和气相色谱/质谱联用法　可用毛细管气相色谱与质谱联用技术分析，灵敏度可达 ng 级以下。气相色谱条件：OV－101弹性石英毛细管柱，初始柱温 100℃（2 min）→20℃/min→260℃（5 min）；进样口温度 260℃；检测器 ECD，温度 300℃。五氯酚的保留时间为 7.2 min。

气相色谱/质谱联用分析条件为：HP－5 MS 毛细管柱，柱温 70℃（1 min）→10℃/min→290℃；气化室、辅助接口温度 280℃；EI 源，扫描范围 40～70 amu。在气相色谱/质谱的总离子流图中，可检测到四氯酚和五氯酚的色谱峰。选择四氯酚和五氯酚的特征放射性核素分子离子峰（质荷比为：264、266、268、230、232、234），另外还有 167、165、132 等碎片离子峰，利用质量色谱图来定性检测四氯酚和五氯酚。若选用 CI 源，则负离子化学源对五氯酚的检测灵敏度高于正离子化学源，最小检出限低于 1×10^{-9}。

5. 高效液相色谱法　可用反相色谱分析。常用 C_{18} 柱；流动相为甲醇与不同比例的氨碱性水溶液，检测器为二极管阵列检测器或紫外检测器。

尿中五氯酚钠的提取和 HPLC 分析操作条件示例：

原样 2 mL 加 0.5 mL 盐酸在消化瓶中，置沸水浴上加热 1 h，水解液冷至室温后用 5 mol/L NaOH 碱化后，加 2 mL 二氯甲烷萃取，弃去萃取液，水溶液加硫酸酸化，再用乙醚萃取 3 次，合并萃取液，40℃水浴上挥发浓缩近干，用甲醇定容至 2 mL。吸取 10 μL 进行 HPLC 分析。

色谱条件：C_{18} 键合柱（4.0 mm×200 mm×5 μm），柱温室温。流动相为甲醇－0.015 mol/L 磷酸氢二铵（50∶50，V/V），流速 1.0 mL/min；检测器为紫外检测器，波长 254 nm。

小结

杀虫剂品种繁多、使用面广且易得。混配杀虫剂和多种杀虫剂的混合使用，使得杀虫剂的分析尤为复杂。大多有机杀虫剂有特殊气味，对疑为杀虫剂中毒的案件，可根据其中毒症状和农药气味加以分析，并注意收集当地市售对照品一起送检。

酯类杀虫剂化学性质多不稳定，在生产和存放过程中，易发生水解或异构化。酯类杀虫剂不具酸碱性，不能与酸或碱成盐，不宜用改良的 Stas-Otto 法进行分离，也不能用酸碱反提法进行净化。生物检材中酯类有机杀虫剂的提取分离方法相似，有直接提取法、液-液萃取法、固相萃取和固相微萃取法等，应根据检材的性状和杀虫剂的理化性质（如极性等）选择合适的提取溶剂和提取方法。

GC 和 GC－MS 分析是杀虫剂分析的重要手段，色谱分析时应注意异构体和商品农药中杂质的干扰。

百草枯极性强，结构中含有离子对，在固相萃取和 HPLC 分析时，可适当加入离子对试剂以提高萃取效率和分析灵敏度。五氯酚钠急性中毒显著病症为体温上升，可高达 40℃以上，五氯酚 GC 分析选择 ECD 灵敏度高。

Summary

In this chapter, the method for analysis of the insecticide is more complex because of its variety. But most insecticide have special odor. So the analysis of the insecticide should be based on the toxic symptom and the insecticide's odor. Meanwhile we should know about local insecticide. insecticide esters are unstable to be hydrolyzed or isomerism easily, can not turn into salts with acid and alkali. It is not suitable separate by improved Stas-Otto, not to be purified by acid and alkali extraction too. The extraction of insecticide in biological specimens is similar, we should select appropriate method and organic solvent according to the samples' character or insecticide's physical and chemical characters.

GC and GC－MS are the most important methods for insecticide analysis, the interference of isomer and impurity should be noticed in the course of chromatography analysis.

Paraquat is hadro-polarity and contains ion pair in its structure, so solid phase extract and HPLC analysis can improve extraction efficiency and sensitivity for analysis by adding ion pair. Striking symptoms of acute PCP－Na poisoning are high body temperature(BT) up



to 40℃. GC－ECD analysis of PCP may improve the sensitivity.

思考题

1. 对怀疑杀虫剂中毒的检验，采取和存放检材时应注意哪些事项？为什么？

2. 了解有机杀虫剂的体内代谢对体内杀虫剂的分析有何意义？

3. 什么是“相似相溶”原理？提取有机磷杀虫剂时，提取溶剂的选择原则是什么？

4. 用 TLC 或 GC 分析杀虫剂时，除出现分析目标物斑点或色谱峰外，也会出现另外一些斑点或色谱峰，你如何分析判断这些斑点或色谱峰？

5. 为什么绝大多数有机杀虫药不宜用改良的 Stas-Otto 法进行分离？能否用酸碱反提法进行净化？为什么？

6. 浓缩杀虫剂提取液时，为什么要求低温且不能蒸干？K－D 蒸发浓缩器的特点是什么？哪些毒物浓缩宜用 K－D 蒸发浓缩器？

7. 有一疑为口服“胺西氯氰乳油”（内含甲胺磷、西维因、氯氰菊酯）中毒死亡的胃内容物，你如何分离提取、分析其中的杀虫药？请提出分析方案。

8. 比较百草枯和五氯酚钠在性质、检材处理、检测方面的异同。

（山西医科大学法医学院　王玉瑾）

第八章　杀鼠剂

要　点	
概述	杀鼠剂(rodenticide)是指用于杀灭家鼠、仓鼠和田鼠等鼠类的药物。常见的杀鼠剂有：①有机合成杀鼠剂：有机氟类、含氮杂环类、香豆素类、茚二酮类、有机磷类、氨基甲酸酯类、有机硫类等；②无机杀鼠剂；③天然植物杀鼠剂；④气体熏蒸类杀鼠剂。 杀鼠剂多经消化道和呼吸道入体，结构不同其中毒症状不同，案情调查应注意中毒者的中毒症状。毒鼠强、氟乙酰胺中毒主要症状为强直性痉挛且发病快；香豆素类、茚二酮类是抗凝血类物质，潜伏期长，发病慢，主要症状为全身广泛性出血。分析方法可采用化学显色法、薄层色谱法、紫外分光光度法、气相色谱法、高效液相色谱法及联用技术等。
检材采取要求及处理原则	对疑似杀鼠剂中毒案件进行毒物分析时，分析方案应根据杀鼠剂入体途径的不同而有差异，一般采取剩余食物、呕吐物、洗胃液、现场可疑容器、胃内容物、血液、肝、尿液等检材。市售商品名称杂乱，有的杀鼠剂中同时含有毒鼠强与氟乙酰胺。
毒鼠强	毒鼠强(tetramine)又名"四二四"等，属于含氮杂环类。化学性质稳定，剧毒，易导致二次中毒。毒鼠强不能经皮肤吸收，经消化道吸收很快，可较长时间存在于体内，有开棺检验价值。急性中毒的特征性症状为强直性、阵发性抽搐。提取方法有水解法、直接提取法、固相萃取法和固相微萃取法。
氟乙酰胺与氟乙酸钠	氟乙酰胺又名敌蚜胺，代号108，进入机体后脱氨基产生氟乙酸。氟乙酰胺和氟乙酸钠均剧毒，且易引起二次中毒。急性中毒的特征性症状为阵发性痉挛。氟乙酰胺和氟乙酸钠均为强极性、水溶性物质，体外检材可直接用丙酮等极性有机溶剂浸泡提取。血、组织等体内检材一般采用不同比例的水与极性有机溶剂配成混合溶剂进行提取、净化。
香豆素类和茚二酮类杀鼠剂	香豆素类和茚二酮杀鼠药属于抗凝血杀鼠药，因潜伏期长，胃内容物中不易检出，而应选取组织、体液作为检材。两类杀鼠剂极性和相对分子质量较大，用GC分析比较困难，一般采用薄层色谱法、紫外分光光度法和高效液相色谱法。

磷化物	无机磷化物主要是磷化锌、磷化铝和磷化氢等。磷化氢为剧毒气体，磷化锌、磷化铝入体后，在胃酸作用下逐渐分解成磷化氢等。对于磷化物中毒的检测，不论是何种磷化物及入体途径如何，主要都是针对磷化氢的检测，血液和脏器中磷化氢难以检测，需对其代谢物亚磷酸等进行分析。对疑为口服磷化锌中毒者也可根据需要检测锌离子。
相关主题	分析化学　农药　杀鼠药　代谢物

杀鼠剂(rodenticide)是指用于杀灭家鼠、仓鼠和田鼠等鼠类的药物。杀鼠剂使用范围广泛且易获得，有些杀鼠剂含有国家明令禁止生产和销售的剧毒成分。近几年利用杀鼠剂投毒、自杀或误服的恶性中毒事件不断发生，给社会治安和人民生命财产造成严重威胁。杀鼠剂种类繁多，常见的杀鼠剂分类如下：

(1) 有机合成杀鼠剂　有机氟类，如氟乙酰胺、氟乙酸钠、甘氟等；含氮杂环类，如毒鼠强、三环唑等；香豆素类，如华法林、溴敌隆等；茚二酮类，如敌鼠、氯敌鼠等；有机磷类，如毒鼠磷、溴代毒鼠磷等；氨基甲酸酯类，如灭鼠安、灭鼠优等；有机硫类，如安妥、双鼠脲等。

(2) 无机杀鼠剂　磷化锌、硫酸砣、亚砷酸钠、碳酸钡等。

(3) 天然植物杀鼠剂　马钱子、曼陀罗、斑蝥素等。

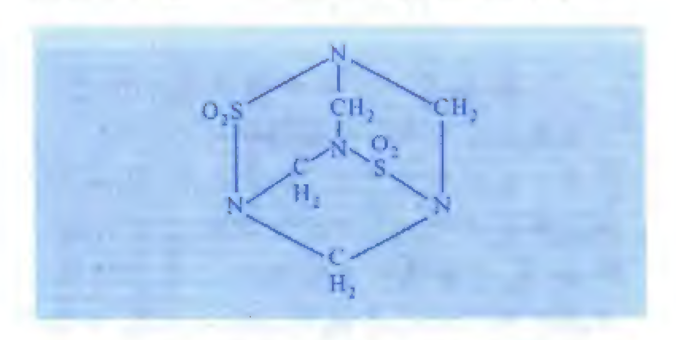
(4) 气体熏蒸类杀鼠剂　氢氰酸、磷化氢等。

本章主要对目前我国中毒发生率较高的有机合成杀鼠剂和磷化物进行介绍。

第一节　有机合成杀鼠药

一、毒鼠强

毒鼠强(tetramine)又名“四二四”、鼠没命等，属于含氮杂环类化合物，其化学名称为四亚甲基二砜四胺，分子式 $C_4H_8N_4O_4S_2$，相对分子质量 240.3，化学结构式见下图。



毒鼠强纯品为白色粉末，无味，熔点 250～254℃，不溶于水，难溶于乙醇，可溶于氯仿、丙酮、苯和醋酸乙酯等有机溶剂。

常见的毒鼠强鼠药多为白色粉剂或用粮食制成的颗粒状毒饵，市售商品名有“闻到死”、“气死猫”、“三步倒”、“神猫大王”、“快杀灵”等。毒鼠强毒性强，对人、畜危害极大，我国于 1991 年已明令禁止生产、销售和使用毒鼠强，从 2002 年 12 月 13 日起，国家五部委联合对剧毒杀鼠剂进行专项整治。但因其作用速度快，鼠易接受、适口性好，不产生耐药性，且成本低廉等特点，在我国许多地区特别是广大农村地区仍广泛使用。加之其无色无味、易于投放、隐蔽性极强，自杀、他杀、误用

案例 1：2002 年 9 月 14 日，南京汤山镇发生了震惊全国的投毒惨案，两家店铺因生意竞争，投毒者为报复“抢他生意的人”，竟在对方面食店的食物原料中投放毒鼠强，该镇民工和学生因食用了该店出售的油条等食物后中毒，中毒者达 200 多人，其中 38 人抢救无效死亡。

等案件在近几年急剧上升。

毒鼠强的化学性质极为稳定,在生物体中不易代谢和排泄,在自然界也难以降解,因此极易导致二次中毒。毒鼠强不能经皮肤吸收,但经消化道吸收很快,进入血液后很快在体内较均匀地分布,可较长时间存在于体内,很难排出体外。有报道,在毒鼠强中毒后40天的血中仍可检出毒鼠强,而直到6个月后尿中才无法检出毒鼠强。中毒致死者埋葬几年的尸体中仍可检出毒鼠强。

案例2:有一少妇突然在家中死亡,其夫在其死后半小时也相继死亡,有人见证两人死前均有呕吐、口吐白沫、抽搐症状。为查明死因,法医提取死者胃内容物、血液、肝要求做毒物分析,结果在所送的检材中均检出毒鼠强。随后村民们向警方反映,在一年前和两年前,村里曾有3人不明不白突然死亡,因当时没人报案,死者随即埋葬,这5名死者均与犯罪嫌疑人有亲戚关系。前3名死者是否也是中毒致死?经开棺验尸,在3名死者胃、肝中均检出毒鼠强,棺木周围的对照土中均未检出毒鼠强。经警方侦查、审问,犯罪嫌疑人对其为报复5人而用毒鼠强投毒杀人的事实供认不讳。

毒鼠强的毒性极大,大鼠口服 LD_{50} 为 0.1～0.3 mg/kg,有报道,7例毒鼠强中毒致死的血液浓度为 0.64～5.49 μg/mL。

毒鼠强中毒潜伏期较短,一般为10～60 min。口服毒鼠强中毒者,中毒症状出现在进食后数分钟至30 min,症状出现快慢与口服时胃内充盈状况有关,空腹者出现症状较快,死亡大多数在服毒后几分钟至3 h内。

毒鼠强急性中毒的特征性症状为强直性、阵发性抽搐,口吐白沫,神志不清等,类似癫痫发作,每次抽搐持续时间从2 min到十几分钟不等。部分患者发作之前有头痛、头晕、恶心、呕吐等前驱症状。重度中毒者,间隔时间短,抽搐越来越频繁,用常规止痉药效果差;轻度中毒者,间隔时间长,抽搐越来越少。经过治疗,中毒者的病情一般在3～10天后缓解,也有持续半月以上,有半数中毒者在抽搐控制后出现精神症状。由于毒鼠强在机体内难以代谢和排泄,经治疗病情缓解者,相隔一段时间后会因组织中的毒鼠强重新分布释放入血,从而引起病情反复,再次发生抽搐症状。毒鼠强慢性中毒症状与癫痫相似,有的类似梅尼埃综合征、病毒性痢疾或精神病而常被忽略或误诊。毒鼠强慢性中毒患者初期大多也发生抽搐,但间隔时间较急性中毒者时间延长,抽搐越来越减少,一般抽搐症状在3～10天后缓解,期间可有不同程度的精神症状,心率稍加快,血压变化不大,约有半数患者有心动过缓,肝区疼痛或肿大的表现。部分中毒者抽搐发作前有头昏、恶心、呕吐等症状。

（一）检材采取和处理

目前毒鼠强中毒无特效的解毒药,临床上一般先采用洗胃、催吐、导泻等抢救措施。因此,毒鼠强中毒者的第一次洗胃液、呕吐物、血液、尿液必须及时收集,吃剩的饭菜、饮料、现场遗留的鼠药袋、可疑的糖块也应收集。中毒致死者可采取胃及胃内容物、血液、尿液、肝等各种脏器。腐败尸体及经40%甲醛水溶液固定后的内脏器官也可供检测毒鼠强用。

检材处理:粉末状鼠药、各种形态毒饵等非生物性检材中毒鼠强含量很高,可直接用少许甲醇溶解、离心,吸取上清液供各种检测方法进行分析。

对于体液、组织等生物检材,需根据检材性状和分析方法进行前处理。比较常用的提取、净化方法有直接提取法、固相萃取法、固相微萃取法和水解法。

1. 直接提取法　体内检材可直接用有机溶剂进行提取。常用的提取溶剂为苯、醋酸乙

酯、丙酮、乙醚、苯-醋酸乙酯(4∶1 或 1∶1)、苯-氯仿(3∶1)。取体液、剪碎的组织 2 mL 或 2 g(根据检材实际情况可按比例调整),加适量无水硫酸钠研磨至干沙状,用提取溶剂提取、过滤,提取液浓缩至干;液体检材可直接加入提取溶剂 5 mL,超声或混旋,离心取上清液,残渣再加相同溶剂提取一次,合并提取液,吹干,定容后检测。血样中加入食盐至饱和,再用有机溶剂(如乙酸乙酯)提取,可增加提取率。如果油脂较多,可采用冰冻方法去除。高度腐败和高油脂的组织检材,必要时提取液浓缩前可过活性炭或中性氧化铝、硅镁吸附剂等固相小柱做进一步的净化。

2. 固相萃取法　可选用 X-5 树脂、C_{18}、GDX-403 或硅藻土固相柱,洗脱液用丙酮、二氯甲烷等。取体液、剪碎的组织加水稀释,离心,上清液过活化好的 GDX-403、C_{18} 或硅藻土固相柱,用蒸馏水洗涤,抽真空除去柱内残留水分,然后用丙酮洗脱,洗脱液经无水硫酸钠脱水后,60℃下空气吹干,定容后检测。

3. 固相微萃取法　固相微萃取法(SPME)可用于尿样中毒鼠强的快速分析。毒鼠强为极性化合物,需用极性萃取纤维头萃取,如聚丙烯酸酯。方法为取尿样 1 mL 置 1.5 mL 样品瓶内,加入 200 ng 内标对硫磷,旋紧垫有橡皮垫的瓶盖,将 SPME 针插入样品瓶,使萃取纤维浸入尿样,吸附 20 min,取出 SPME 针,插入气相进样口,在进样口 250℃解吸 3 min 即可进行分析。

4. 水解法　毒鼠强入体后部分与血液和组织中蛋白质相结合,在体内以游离和结合态两种形式存在。对血液和组织检材先水解后再进行提取,可提高提取回收率。毒鼠强结构稳定,在强酸性环境中不容易发生分解,一般采用酸水解法,盐酸浓度大于 2 mol/L,水解温度控制在 90～120℃。例:取血液 2 mL 或匀浆组织 2 g,加入 2 mol/L HCl,110℃水解 40 min,以 6 mL 苯-氯仿混合溶剂(3∶1)提取 2 次,强烈振荡 2 min 后,以 8 000 r/min 转速离心,分离合并有机层,在 K-D 浓缩器上浓缩至干,残渣用 100 μL 甲醇溶解,取 1 μL 甲醇溶液用气相色谱分析。

(二) 检测方法

1. 急性毒性试验　根据毒鼠强特殊的中毒症状,取可疑食物、呕吐物少许加水稀释,或取胃内容物 10～15 mL(若胃内容物黏稠可加少许蒸馏水稀释),离心,取上清液 5～8 mL 经大鼠灌胃,观察大鼠反应。若检材中含有毒鼠强,实验大鼠则在数分钟内发生强直性、阵发性抽搐,根据检材中毒鼠强含量不同,大鼠每次抽搐持续时间从 2 min 到十几分钟不等,如果含量较高,实验大鼠经3～4次强直性抽搐后死亡(图 8-1)。此法简便直观,可作为毒鼠强中毒的初步筛选试验。



图 8-1　大鼠毒鼠强急性毒性实验

2. 薄层色谱法　薄层色谱法用于分析毒鼠强灵敏度比较低,仅适用于药粉、毒饵等毒物含量高的检材,且需使用高效薄层板。展开剂可选用石油醚-丙酮-甲酸(70∶60∶2)或环己烷-苯-醋酸乙酯(3∶5∶2),显色方法可采用变色酸显色剂(变色酸 1.1 g,加 40 mL 水溶解,搅拌下依次缓缓加入 60 mL 95%乙醇和 10 mL 浓硫酸,冷却后移入棕色瓶中置冷暗处备用),展开的薄层板喷变色酸显色剂,放入 110～120℃烘箱中加热 10～20 min,毒鼠强呈蓝紫色斑点,检出限为 8 μg。

3. 气相色谱法　气相色谱法是分析毒

鼠强的常用方法。检材经提取净化，定容后无需衍生化即可直接进样分析。毒鼠强分子结构中含氮和硫，可用 NPD、FPD 或 FID 检测器进行检测。最为常用的是 GC - NPD 法，并用 GC - MS 作为确证手段。

GC - NPD 法分析毒鼠强，可采用以下色谱条件：HP - 1 或 DB - 5 毛细管柱 30 m×0.25 mm×0.25 μm，柱温 120℃（1 min）→50℃/min→220℃（4 min），进样口温度 250℃，检测器温度 250℃，载气（N_2）流速 1.5 mL/min。毒鼠强保留时间为 4.97 min。如果进行定量分析，可采用对硫磷作为内标物。

4. 气相色谱/质谱联用法　GC - MS 联用法分析是毒鼠强定性定量检测的有效手段。质谱的质量分析器可用四极杆、离子阱或飞行时间质谱（TOFMS）。

GC/MS 条件：四极杆质量分析器，HP - 1 毛细管柱 30 m×0.25 mm，柱温 100℃（1 min）→20℃/min→280℃（15 min），进样口温度 250℃，接口温度 280℃，离子源温度 230℃，EI 电压 70 eV。

毒鼠强的特征碎片离子 m/z 为 92，121，132，212 及 240，m/z 240 为分子离子峰，m/z 212 为基峰（分子离子峰脱去 NCH_2 后的碎片离子峰），240/212 的丰度比在 60%～70%之间。通常体外检材或含量较高的体内检材，用全谱扫描方式即可检出毒鼠强。若体内检材含量低，杂质干扰严重，则需在 m/z 240、212 处采用选择离子监测（SIM）方式进行分析。通过比较检材提取物与对照品的保留时间及其特征碎片离子 m/z 240/212 的丰度比可进行毒鼠强的确认。

二、氟乙酰胺和氟乙酸钠

氟乙酰胺（fluoroacetamide）与氟乙酸钠（sodium fluoroacetate）均为有机氟类剧毒杀鼠药。

氟乙酰胺（代号 1081）又名敌蚜胺，纯品为无味、无臭白色针状结晶，分子式 FCH_2CONH_2，相对分子质量 77.1，熔点 107～108℃，极易溶于水、乙醇、甲醇等，在二氯甲烷中溶解度较小，难溶于石油醚，可溶于乙酸乙酯、氯仿等，氟乙酰胺在空气中易潮解，在酸性、中性水溶液中可水解为氟乙酸，在碱性水溶液中可水解为氟乙酸钠。

$$FCH_2CONH_2 + H_2O \rightarrow FCH_2COOH + NH_3 \uparrow$$

$$FCH_2CONH_2 + HCl + H_2O \rightarrow FCH_2COOH + NH_4Cl$$

市售商品中冠以“猫王”、“十里香”、“邱氏杀鼠药”、“气体麻醉杀鼠剂”等名称的杀鼠药中，大多含有氟乙酰胺或氟乙酸钠。常见的氟乙酰胺鼠药多为白色粉剂、红色液体（作为警示色）或用粮食制成的有色颗粒状毒饵。液体鼠药中有时同时含有氟乙酰胺和氟乙酸钠。

氟乙酰胺除可经消化道吸收外，亦能经皮肤黏膜吸收。氟乙酰胺分子中的氟碳键结合牢固，无论在体内还是暴露于自然界都很难断裂，因此极易引起二次中毒。氟乙酰胺内吸作用很强，其滞留期与植物种类、部位和生长期有关，喷洒药液于草地可有效灭鼠，同时也易引起牛、羊等牲畜中毒。氟乙酰胺对不同种属的哺乳动物毒性差别较大，同种动物中的个体差异也较大。氟乙酰胺对狗比较灵敏，0.2～0.5 mg/kg 可中毒致死；人口服 0.1～0.5 g 可中毒死亡。

氟乙酰胺有一定潜伏期，中毒症状一般较毒鼠强出现晚。中毒主要出现神经系统和心肌症状。一般多在进食后 1～2 h 内出现症状。轻度中毒症状为头痛、头晕、恶心、呕吐、烦躁不安、阵发性抽搐等，重度中毒除神经症状外，还会出现惊厥、呼吸衰竭、严重心肌损害、心律紊乱、心力衰竭、神志不清等症状。抽搐是这类毒物中毒的主要表现，抽搐严重时会出现强直性痉挛，表现出来势凶猛、反复发作、进行性加重的特点。临床上可用乙酰胺作为拮抗剂，并可用巴比妥类药物进

行对症治疗。

氟乙酸钠应用历史比氟乙酰胺长，代号1860，分子式 FCH_2COONa，相对分子质量100.0，纯品为白色针状结晶，无臭，略有咸味，易溶于水，极易潮解，难溶于有机溶剂。氟乙酸钠的毒性大于氟乙酰胺，作用速度更快。人口服氟乙酸钠的致死量为 0.7～5 mg/kg。

（一）检材采取和处理

氟乙酰胺在酸性、中性水溶液中以及进入机体后易水解为氟乙酸，通常在氟乙酰胺或氟乙酸钠中毒的案件中，呕吐物、现场可疑物、毒饵等体外检材含量较高，可检出原体；而血、组织等体内检材含量较低，往往仅能检测出氟乙酸。

氟乙酰胺或氟乙酸钠均为强极性、水溶性物质，体外检材可直接用丙酮、甲醇、醋酸乙酯等极性有机溶剂浸泡提取。血、组织等体内检材一般采用不同比例的水与极性有机溶剂配成混合溶剂进行提取、净化。提取手段可采用大量溶剂浸泡过夜的方法，也可采用少量溶剂混旋或超声多次进行提取。

方法：取适量检材加丙酮-水或甲醇-水（8∶2 或 7∶3）混合溶剂浸提，超声振荡 30 min，离心后，吸取上清液，残渣再加上述混合溶剂提取一次，合并提取液，调至中性或 pH8，90℃水浴中空气吹去丙酮，剩余的水溶液可直接用于化学显色法检测。

也可将上述水溶液浓缩至 2 mL，用己烷少许洗涤，弃去己烷液，用盐酸将水调至 pH 2，再用乙酸乙酯提取氟乙酸，分离出乙酸乙酯并加氨碱性丙酮液混匀后挥干用于检测。如果检材含蛋白质较高，则需在提取过程中加蛋白质沉淀剂予以去除。

（二）检测方法

1. 化学显色反应　可用于氟乙酰胺或氟乙酸钠检测的化学显色反应包括硫靛反应、纳氏反应等，其中硫靛反应最为常用。

（1）硫靛反应　硫靛反应的原理为含氟乙酰基的化合物，在强碱性条件下与硫代水杨酸钠作用，再经铁氰化钾氧化，生成红色的硫靛。该反应的检出限为 10 μg。

红色硫靛化合物

检测时取前处理水溶液 5 mL 于蒸发皿中，加 40%氢氧化钠溶液 1 mL，硫代水杨酸钠 0.1 g，混匀后放入 160℃烘箱中加热反应 2 h 或 120℃反应 18 h，冷却后取出加 3 mL 5%铁氰化钾溶液洗涤蒸发皿壁，转入试管中，加 2 mL 氯仿振摇，如含氟乙酰胺或氟乙酸则氯仿层呈红色。其他含卤代乙酰基的化合物也有相同反应。硫靛反应不能区分氟乙酰胺或氟乙酸钠。

硫靛反应操作简单方便，对于体外检材和新鲜生物检材效果为佳，但有些检材基质的存在或反应条件控制不当时会产生干扰，出现假阳性，必须同时作空白。当反应结果为阳性时，应进一步用光谱或色谱分析技术进行确证。

硫靛反应的确证试验：将硫靛反应所得的氯仿溶液经无水硫酸钠过滤脱水后，以氯仿为参比进行分光光度测定。硫靛反应的红色产物，在紫外可见光区的 256、279、312 和 546 nm 处有吸收峰，可用于氟乙酰化合物的

定性定量检测。

将硫靛反应所得的氯仿溶液浓缩后点于硅胶G板上，以乙酸乙酯-丙酮(4∶1)或氯仿-乙醇(5∶1)为展开剂进行层析，检出限为1～2 μg。因硫靛反应产物本身为洋红色，不需显色剂，所以操作比较方便。如果采用高效薄层板进行HPTLC分析，则能得到更好的分离分析效果。

(2) 改良Nessler试剂反应　氟乙酰胺与强碱性的Nessler试剂反应能生成橘红色的沉淀。反应灵敏度为1∶20 000。铵盐或能分解产生氨的化合物皆有此反应。

$$FCH_2CONH_2 + 2(KI)_2HgI_2 + 4NaOH \longrightarrow 4KI + 3NaI + FCH_2COONa + O\langle^{Hg}_{Hg}\rangle NH_2\downarrow$$

Nessler反应可用于区分氟乙酰胺或氟乙酸钠，但仅适用于体外检材的检测。可取前处理水溶液1～2 mL于试管中，加Nessler试剂1～2 mL，如含氟乙酰胺，会有下列显色反应：淡黄→亮黄→深黄→橘红色沉淀。如含量较高，可立即变黄，短时间就出现橘红色沉淀。如为氟乙酸钠则无此反应。

也可取残渣加少许乙醇溶解，置于白瓷板孔中1～2滴，加Nessler试剂2滴，即出现淡黄→亮黄→深黄→橘红色沉淀。观察15 min后，向沉淀中加入浓硫酸2滴(为防止胃液中蛋白质、酶等含氨基化合物的干扰)，玻璃棒轻轻搅匀，出现颗粒沉淀为阳性。

2. 气相色谱法　气相色谱法是检测氟乙酸和氟乙酰胺常用的方法，FID、ECD、NPD三种检测器均可用于检测。

GC-FID法分析氟乙酸和氟乙酰胺，可采用以下色谱条件：FFAP弹性石英毛细管柱25 m×0.32 mm，柱温110℃(2 min)→20℃/min→240℃(1 min)，进样口温度250℃，检测器温度280℃，N_2 1 mL/min，尾吹气30 mL/min。前处理水溶液可直接进样，方法灵敏、简便、快速，可用于毒饵、胃内容物等新鲜检材的检测。但是，由于直接进水样，氟乙酸对色谱柱的损害较大，柱效下降很快，色谱柱的寿命比分析其他化合物要缩短许多，因而体内检材提取物多经衍生化(如甲酯化)后进行气相色谱分析。

用GC-ECD检测氟乙酰胺和氟乙酸，一般要将氟乙酰经衍生化后，在氟乙酰化合物中引入电负性基团，可大大提高方法的灵敏度，检测限达0.1 μg/g，适用于体液、组织等生物检材的检测。

氟乙酸或氟乙酰胺在碱性条件下可与五氟苄基溴(PFBBr)反应生成衍生物FAC-PFB酯。方法为检材提取液于试管中挥干后，加入0.5 g无水硫酸钠和0.5 g无水碳酸钾，再加100 μL的10%五氟苄基溴丙酮液和4 mL丙酮，密封混匀，置于微波炉中衍生2 min，挥干后定容，气相色谱仪分析。色谱条件可选用SE-30弹性石英毛细管柱30 m×0.32 mm，柱温90℃(2 min)→5℃/min→140℃(1 min)→40℃/min→280℃(5 min)，进样口温度280℃，检测器温度300℃，N_2：15psi。

氟乙酸可与含氮的芳香胺反应，生成的衍生物可用GC-NPD进行检测。较多被采用的衍生化试剂为*N*,*N*-二乙基对苯二胺硫酸盐(DEPA)，同时需用*N*,*N*-二环己烷碳酰亚胺(DDC)作催化剂。方法可用于体内检材的检测，检测限可达2 μg/g。

用GC-ECD和GC-NPD进行检测，由于提取物经过了衍生化，检测目标为氟乙酸的衍生物，因而不能区分氟乙酰化合物原体和代谢产物。用于GC-ECD和GC-NPD检测的氟乙酸衍生物均可用GC-MS进行确证分析。

3. 高效液相色谱法(HPLC)　高效液

相色谱法用于分析氟乙酸和氟乙酰胺优于气相色谱法，前处理水溶液可直接进样分析，也可经衍生化后分析其衍生物。直接分析氟乙酸和氟乙酰胺可采用以下色谱条件：μBondapak™ NH_2 柱，紫外检测器，检测波长220 nm，流动相甲醇1 mL/min，该条件下两者可完全分离。也可采用反相 C_{18} 柱，乙腈-乙酸乙酯-水(9∶2∶2)为流动相，检测氟乙酸的4-溴甲基-7-甲氧基香豆素衍生物。如果有条件使用液-质联用仪进行氟乙酸和氟乙酰胺的检测，则能大大提高检测的准确性和灵敏度。

4. 氟离子选择电极法　氟乙酰胺是一种具有内吸作用的有机毒物，氟乙酰胺中毒致死后，氟均匀地分布在肝、肾、脑中；氟与机体骨中钙结合成氟化钙，蓄积于骨中，因此骨及骨灰中含氟量较高；尿中氟含量最高。用氟离子选择电极法测定这些检材中的氟化物，对氟乙酰胺中毒死亡、尸体火化而无法取得肝、肾、脑、尿等检材时，骨灰中含氟量的测定显得尤为重要。

例如：1例先后5次遭受氟乙酰胺投毒，5个月后死亡者，肝、肾、脑中含氟量分别为365、344和180 μg/100 g，较正常值高2～3倍，在机体内分布比较均匀。骨及骨灰中含氟量为正常值的3～6倍，尿中含氟量较正常尿高5～30倍。

氟离子选择电极法是利用电极法测定样品中氟离子的含量来判断检材中是否含有氟化物。原理为氟离子选择电极浸入含氟离子溶液时，溶液中氟离子与电极中氟化镧单晶表面的氟离子进行交换，使两相的电荷分布发生改变，在单晶表面产生一膜电势，以甘汞电极为参比电极，则可测得电势。电势的变化与检液中氟离子浓度的对数呈线性关系。

检测时可取适量检材经干法有机质破坏后，加20 mL热蒸馏水溶解，搅匀后过滤，取滤液15 mL于50 mL容量瓶中，加入25 mL 0.2 mol/L柠檬酸钠-0.2 mol/L硝酸钾缓冲液，用6 mol/L盐酸调节pH 6.5并加水稀释至50 mL。将此溶液转移入聚乙烯烧杯中，并置于磁力加热搅拌器上，浸入氟电极与甘汞电极，搅拌15 min，读取毫伏数。用氟化钠标准品配制成系列标准溶液，与检材、空白对照样品在相同条件下测定，绘制工作曲线，计算检材中氟离子的含量。

三、氟乙酰胺和毒鼠强混合中毒的检测

在市售的水剂和粉剂杀鼠药中，许多是由毒鼠强和氟乙酰胺混合配制而成，毒鼠强和氟乙酰胺是两类理化性质不同的剧毒杀鼠药，虽然氟乙酰胺较毒鼠强在体内的潜伏期长，但两者中毒症状相似，均表现为阵发性、强直性抽搐。毒物分析时，容易在检出一种杀鼠药后漏检另一种杀鼠药。用优化了的GC和GC-MS法可同时测定检材中的毒鼠强和氟乙酰胺，并且具有较高的分离度和灵敏度。

毒鼠强和氟乙酰胺在醋酸乙酯、二氯甲烷及丙酮中均有较好的溶解度。同时提取检材中毒鼠强和氟乙酰胺，一般采用直接提取法。

米饭、馒头、胃内容物等适量，经无水硫酸钠研磨成干沙状后，加入醋酸乙酯或二氯甲烷或丙酮超声萃取，过滤，滤液浓缩至干，残渣用提取液定容，待检。

肝、血及生物组织检材2 g，加1 g无水硫酸钠搅拌，加丙酮5 mL，振摇，离心，过滤。重复提取3次，合并滤液，挥发至1 mL左右，取样进行色谱分析。

高度腐败和高油脂的检材，按肝、血及生物组织检材提取方法处理后，经活性炭小柱净化，然后再进行测定。

GC和GC-MS分析条件：

GC分析条件：FFAP大口径毛细管柱10 m×0.53 mm×2.0 μm，NPD检测器，进样口和检测器温度：260℃，柱温100℃(1 min)→8℃/min→160℃→30 ℃/min→260℃(10 min)，载气(N_2)柱前压力为40.4 kPa，氢气流量为5 mL/min，空气流量为100 mL/min。保留时间t_R分别为：毒鼠强14.3 min，氟乙酰胺7.5 min。氟乙酰胺峰型较差有拖尾现象。

GC-MS分析条件：配有溶剂排空模式的程序升温汽化(PTV)进样口的GC-MS仪，HP-5MS毛细管柱30 m×0.25 mm×0.25 μm，载气为氦气，大体积(40 μL)样品采用多次进样方式(5 μL×8次)注射进入进样器，溶剂延迟2 s(以保证溶剂从进样器中除去)，分流排空阀控制在70 mL/min的流量，多次进样后，分流排空阀关闭(2.1 min)，直到从衬管中清除残留溶剂再重新打开。PTV程序升温：0℃(1.7 min)→250℃/min→250℃(2 min)→100℃/min→300℃(6 min)。柱温：80℃(3.7 min)→100℃/min→150℃→30℃/min→250℃(3 min)。

质谱条件：电子轰击(EI)离子源，电子能量70 eV，扫描特征离子：氟乙酰胺m/z 77(分子离子峰)、44(基峰，分子离子峰脱去FCH_2)；毒鼠强m/z 240(分子离子峰)、212(基峰，分子离子峰脱去NCH_2)。

四、抗凝血杀鼠剂

香豆素类和茚二酮类杀鼠剂均属于抗凝血杀鼠剂(anticoagulant rodenticide)。由于其具有适口性好、缓效、不易被鼠拒食、灭鼠效果显著等特点，被世界各国推荐使用，主要用于农业、餐饮业及其他行业的防鼠灭鼠。在我国各地爱委会发放的杀鼠药中，大多含有抗凝血杀鼠剂中的一种或两种。由于此类杀鼠剂应用广泛，人、畜中毒的情况也时有发生，因误食毒饵而中毒的案例报道较多。

抗凝血杀鼠剂灭鼠的毒理机制在于破坏机体的凝血功能和损坏微小血管，引起内出血。香豆素类能损害肝小叶，影响凝血酶原的生成，使机体凝血能力减弱甚至消失；同时香豆素类还能使毛细血管变脆，抗张能力减弱，易裂，渗透性增加。上述两方面的毒理作用可造成内脏和皮下大量出血而导致死亡。

抗凝血杀鼠剂中毒的潜伏期较长，一般为3～5天，鼠类口服后出现怕冷、虚弱、行动缓慢等症状，鼻、爪、肛门、阴道和内脏均发生出血，死亡高峰期为4～6天。

(一) 香豆素类

香豆素类(coumarinic)是以4-羟基香豆素为母体结构，在3位碳上接不同基团构成的一类杀鼠剂。常见的香豆素类主要包括华法林、杀鼠迷、溴敌隆和大隆等，前两种属于第一代香豆素类，后两种属于第二代香豆素类。第一代香豆素类的灭鼠有效剂量与摄食方式有关，连续摄食具有累积效应。例如，杀鼠迷大鼠单次口服LD_{50}为16.5 mg/kg，若摄食方式改为连续五天每日等量口服，则LD_{50}为0.3 mg/(kg·d)，后一种摄食方式的毒性比前者约大10倍。第二代香豆素类的毒性远比第一代的强，但摄食方式对毒性的影响相对较小。

香豆素类杀鼠药中毒的潜伏期较长，基本无二次中毒的危险。人口服香豆素类杀鼠药后中毒症状为腹痛、背痛、恶心、呕吐、鼻腔出血、牙龈出血、皮下出血、血尿、便血等，严重者因全身广泛性出血不止而导致死亡。

四种常见香豆素类的化学结构和理化性质见表8-1。

香豆素类难溶或不溶于水，溶于甲醇、乙醇、氯仿、丙酮和醋酸乙酯等有机溶剂。

表 8-1 8种抗凝血杀鼠剂的结构、熔点及毒性

名称与相对分子质量	别名	化学结构式	熔点/(℃)	稳定性	大鼠经口 LD_{50}/(mg/kg)
香豆素类杀鼠剂 coumarinic rodenticide					
华法林 warfarin 308.3	杀鼠灵、灭鼠灵、克鼠甲		159~162	高温易分解	3.0
杀鼠迷 coumatetralyl 292.3	立克命、克鼠立、杀鼠萘		172~176	阳光下可分解	16.5
溴敌隆 bromadiolone 527.4	乐万通		200~210	200℃以下稳定	1.1
大隆 brodifacoum 523.4	溴鼠隆、杀鼠隆		228~232	潮湿条件下易降解	0.26
茚二酮类杀鼠剂 indandione rodenticide					
敌鼠 diphacinone 340.4	野鼠净		145~147	性质稳定，在水中和氧化剂的作用下不易分解	2.3
氯敌鼠 chlorophacinone 374.9	氯鼠酮		140~144	同上	9.6~13.0
杀鼠酮 pindone 230.4	鼠完		108.5~110.5	同上	30
异杀鼠酮 valone 230.4	灭鼠酮		68~69	同上	50

1. 检材采取和处理 香豆素类杀鼠剂可经消化道、呼吸道及皮肤破损处进入机体。性质稳定，在体内不易被分解排泄，故易造成蓄积中毒。香豆素类在生物检材中的含量与摄食方式和病程长短有关。一次摄食大剂量鼠药引起的急性中毒，可取胃内容物、体液及组织进行检测，否则因潜伏期长，胃内容物中不易检出，而应选取组织、体液作为检材。

(1) 液-液萃取法 由于香豆素类的分子结构中含烯醇结构，为弱酸性有机化合物，因而检材可用盐酸调至 pH 5，用液-液萃取法进行提取。提取溶剂可选用醋酸乙酯、甲醇、氯仿、丙酮等有机溶剂或氯仿-丙酮(1：1)、氯仿-甲醇(9：1)等混合溶剂。

固体检材如米饭、呕吐物、青菜等可加无水硫酸钠研磨后，用上述有机溶剂超声萃取。

对于成分复杂的检材，提取液浓缩前需净化处理，可过三氧化二铝或弗罗里硅土等吸附柱，也可用 0.1 mol/L 盐酸洗涤。需要注意的是，尽管此类具有弱酸性，但溴敌隆和大隆等因其分子中疏水部分较长，所生成的盐难溶于水，故不宜用碱性水溶液反提净化。

(2) 固相萃取法 体液等水性基质检材也可采用固相萃取法进行提取。方法为将血、尿等加蛋白质沉淀剂沉淀蛋白质，离心取上清液，用盐酸调至 pH 5 后过活化好的 GDX－403 小柱，流速 1～2 mL/min，再用 5 mL 蒸馏水过柱以除去亲水性杂质，真空抽去水分，用 6 mL 醋酸乙酯洗脱被测组分，60℃水浴中空气吹干，残留物定容后检测。应注意提取液浓缩过程对回收率影响较大，如果加热吹干溶剂温度过高或时间过长，特别是溶剂挥干后不及时取出，会大大降低回收率。

2. 检测方法 香豆素类的分析有紫外分光光度法、薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法、高速分散液相色谱法和极谱法等。但由于香豆素类相对分子质量较大，不易汽化，且热稳定性较差，因此法医毒物分析一般多采用紫外分光光度法、薄层色谱法或高效液相色谱法进行分析。

(1) 紫外分光光度法 香豆素类都有紫外吸收，并能发出荧光，碱性条件下荧光增强。由于此类药物具有弱电解质的性质，被测溶液的酸碱性对紫外吸收光谱的形状、峰位及吸收系数的大小有较大的影响。例如，杀鼠迷在中性溶液中于 273、284 和 307 nm 附近有三个吸收峰，在酸性溶液中吸收光谱的形状与峰位不变，但吸收系数不同；在碱性溶液中 273 和 284 nm 附近的吸收峰消失，307 nm 附近吸收峰增强。因此测定紫外吸收光谱时，应控制被测溶液与已知对照品溶液的酸碱性条件完全一致，也可通过改变被测溶液的酸碱性来得到更多的光谱信息。此方法适用于毒饵、鼠药制剂等体外检材的分析。

(2) 薄层色谱法 薄层色谱法分析香豆素类灵敏度较低，可用于毒饵、鼠药制剂等非生物检材中香豆素类的分析，也可用于一次大剂量口服中毒者胃内容物、体液等生物检材的分析。方法检出限为 2～5 μg。常用的色谱条件如下：吸附剂：硅胶 GF_{254} 或高效薄层板。展开剂：①苯-丙酮(9：1)；②二甲苯-丙酮(9：1)；③甲醇-醋酸-二氯乙烷(8：2：98)；④氯仿-甲醇(97：3)；⑤环己烷-丙酮-醋酸(7：2.5：0.5)；⑥二氯甲烷-甲醇-冰醋酸(90：8：2)。

点样展开后薄层板可于 UV_{254} 紫外灯下观察结果，上述几种香豆素类均为紫蓝色荧光斑点。展开剂为酸性时，斑点的荧光强度较弱，如于薄层板上喷 10%的氢氧化钾溶液或将薄层板置于氨水瓶口熏片刻，可提高荧光强度。定位也可采用化学显色剂，如 22%(W/V)三氯化锑氯仿溶液、8%(W/V)氢氧化钠乙醇溶液、5%(W/V)硫酸乙醇溶液等。若在紫外灯下定位后，用薄层扫描仪对斑点进行原位扫描，则可进行生物检材的定量测定。

(3) 高效液相色谱法 香豆素类可采用“离子抑制”反相高效液相色谱技术进行分

离。香豆素类为弱酸性有机化合物，可在流动相中加入1%的醋酸或甲酸等，抑制溶质的离子化，获得对称的色谱峰。一般可采用甲醇-水-冰醋酸(80∶20∶1或85∶15∶1)作为流动相。若需同时检测几种极性差异较大的，可不断改变甲醇和冰醋酸的比例进行梯度洗脱。色谱柱可采用C_{18}反相柱，检测器可选择紫外检测器、二极管阵列检测器或荧光检测器。若检测器为前两者，检测波长245～335 nm，参比波长410～490 nm。若选用荧光检测器进行检测，激发波长310 nm，发射波长390 nm，且需采用柱后pH转换技术，在柱后向流动相中泵入0.015 mol/L氢氧化钠溶液或氯仿-仲丁胺(5∶1)溶液使pH>8，增强荧光强度，以提高灵敏度。

溴敌隆分析条件：

高效液相色谱柱：Hypersil ODS C_{18}柱，25 cm×2.0 mm×5 μm。保护柱：Hypersil ODS C_{18}柱，5 cm×4.0 mm×10 μm。柱温：40℃，流动相：甲醇-1.4%醋酸(88∶12)，流速0.5 mL/min，进样量20 μL，二极管阵列检测器(DAD)，波长265 nm。溴敌隆有两个异构体和一个酮式结构，在二极管阵列检测器(DAD)的吸收光谱上观察到溴敌隆在265 nm和285 nm处有两个吸收峰。在上述分析条件下，这两个吸收峰能从基线完全分开且峰形好。以保留时间和DAD吸收光谱图定性，以峰面积或峰高定量。

（二）茚二酮类

茚二酮类(indandione)是以茚二酮为母体结构，在2位碳上接不同基团构成的一类杀鼠剂。常见的茚二酮类主要包括敌鼠、氯敌鼠、杀鼠酮和异杀鼠酮，其中敌鼠最具代表性，我国以其钠盐——敌鼠钠较常见。敌鼠钠对人、畜毒性较低，即使发生中毒，维生素K是其理想的解毒剂，但对猫和狗毒性较大，并能发生二次中毒。

茚二酮类杀鼠药的毒理作用与香豆素类杀鼠药基本相同，潜伏期长，发病慢，出现中毒症状较晚。灭鼠有效剂量也与摄食方式有关，连续多次摄食具有累积效应。中毒症状表现为持续性腹痛、呕吐、头晕、消化道出血、全身皮肤及黏膜出现紫癜等。

四种常见茚二酮类的化学结构式和理化性质见表8-1。

茚二酮类不溶于水，溶于丙酮、乙醇、苯等有机溶剂，稍溶于热水，可溶于碱液。

1. 检材采取和处理　茚二酮类杀鼠剂可经消化道、呼吸道及皮肤进入机体。口服茚二酮类迅速发生中毒者可取呕吐物、胃内容物及血、尿进行检测。如果口服数日才出现中毒症状或死亡者，应采取组织、体液作为检材。

检材可用10%盐酸调pH3～4，用氯仿、醋酸乙酯或丙酮等有机溶剂或混合溶剂直接提取，也可利用国产GDX-403等固相萃取小柱进行生物检材的提取、净化。生物检材中敌鼠的固相萃取，用乙腈沉淀蛋白法、硅胶(SILICA GEL)柱萃取血和肝脏中敌鼠效果很好；用阴离子交换树脂(SAX)柱萃取血和尿中敌鼠回收率较高，但尿提取物中杂质干扰较大；用氰基柱萃取尿中敌鼠杂质少，回收率高，但用其萃取血中的敌鼠，回收率仅为10%。具体操作步骤如下：

取血0.5～1 mL，用0.025 mol/L磷酸盐缓冲液(pH为3)稀释至6 mL，过一活化好的SAX柱2次，流速1.0 mL/min，用5 mL缓冲液冲洗柱子，氮气流吹干，用6 mL 2%的盐酸甲醇溶液洗脱，洗脱液浓缩至1.0 mL，供HPLC分析。

取血1 mL，加入2 mL乙腈，旋涡振荡3～5 min，离心，残渣用4 mL乙腈分2次洗涤，合并上清液，过硅胶(SILICA GEL)柱，流速1.0 mL/min，吹出柱内溶液，浓缩至1.0 mL，供HPLC分析。

2. 检测方法 茚二酮类的检测方法与香豆素类相近，可采用紫外分光光度法、薄层色谱法或高效液相色谱法进行分析。

（1）紫外分光光度法 茚二酮类都有紫外吸收，由于此类药物具有较强酸性，可与碱成盐，使紫外吸收光谱的形状、峰位及吸收系数的大小发生改变。因此测定紫外吸收光谱时，应控制被测溶液与已知对照品溶液的酸碱性条件完全一致。

将提取纯化后的残渣用无水乙醇溶解，测定紫外吸收。敌鼠的 λ_{max} 为 285、312、314 nm，λ_{min} 为 261、295、319 nm。敌鼠或敌鼠钠的含量在 1～15 μg/mL 范围内时，其含量与 285 nm 处测定的吸收度或 285 和 295 nm 处吸收度的差值成正比，由此可测定其含量。

紫外分光光度法一般仅适用毒饵、鼠药制剂等体外检材的分析。对于体内检材，因杂质干扰比较严重，可采用紫外导数分光光度法进行检测。

（2）薄层色谱法 用薄层色谱法进行茚二酮类的分析时，吸附剂可用硅胶 GF_{254}，展开剂宜选用带有弱酸性或弱碱性的混合溶剂，如甲醇-苯-甲酸（89∶10∶1）、二氯乙烷-甲醇-氨水（79∶20∶1）等。展开后可直接在 UV_{254} 紫外灯下观察定位，茚二酮类显黄色斑点；也可喷洒 20%三氯化铁溶液或 22%三氯化硒氯仿溶液进行显色，前者阳性斑点呈暗红色，后者阳性斑点呈粉红色。甲酸能使茚二酮类显红色，用含甲酸的甲醇作展开剂时，可见红色斑点随展开剂上移，因此不必用其他显色剂显色。

（3）高效液相色谱法 茚二酮类具有较强的酸性，如敌鼠和氯敌鼠的酸性接近苯甲酸，用高效液相色谱法分析时，需要采用反相离子对色谱法进行分离。离子对色谱法适用于可完全离子化的较强的酸或碱，是将一种（或数种）与样品离子电荷相反的离子（称为对离子或反离子）加入到色谱系统的流动相中，使其与样品离子结合生成弱极性的中性缔合物即离子对，离子对不易在水中解离而容易进入有机相中，从而在固定相与流动相间构成分配平衡。进行敌鼠和氯敌鼠的分析时，可选用四丁基铵正离子 $(C_4H_9)_4N^+$ 作为反离子，采用 C_{18} 反相色谱柱，紫外检测器进行检测。流动相为甲醇-水-磷酸四丁基铵（70∶30∶0.4），检测波长 321～325 nm，参比波长 350～370 nm。二极管阵列检测器波长选择 286 nm。

第二节 无机磷化物杀鼠剂

无机磷化物杀鼠剂主要包括磷化锌、磷化铝和磷化氢等。

磷化锌（zinc phosphide, Zn_3P_2） 为黑色或灰黑色粉末，有光泽，相对分子质量 258.6，比重 4.55，不溶于水及乙醇，微溶于二硫化碳和油类。磷化锌在干燥避光的条件下比较稳定，在潮湿环境中能缓慢分解，遇酸则分解加快。分解时产生剧毒的磷化氢气体。

$$Zn_3P_2 + 6H_2O \rightarrow 3Zn(OH)_2 + 2PH_3\uparrow$$

$$Zn_3P_2 + 3CO_2 + 3H_2O \rightarrow 3ZnCO_3 + 2PH_3\uparrow$$

$$Zn_3P_2 + 6H^+ \rightarrow 3Zn^{2+} + 2PH_3\uparrow$$

大鼠口服磷化锌 LD_{50} 为 40mg/kg。

磷化铝（aluminium phosphide, AlP） 相对分子质量 58.0，纯品为白色结晶，工业品为灰绿色或褐色粉末，常加赋形剂制成重约 3 g、含量约 52%的灰绿色圆凸形片用于熏蒸仓库灭鼠。磷化铝遇水或酸分解生成磷化氢气体的速度比磷化锌更快，产生剧毒气体的浓度更大。

磷化氢（phosphine, PH_3） 常温下为无色气体，有特殊的烂鱼样气味，相对分子质量 34.0，比重 1.1，沸点 −87.4℃，微溶于水，溶于乙醇、乙醚。在空气中一定浓度下可燃烧，浓度达 26 mg/L 时可引起爆炸。空气中的

磷化氢气体浓度达 409～846 mg/m^3 时，人接触 30～60 min 便可中毒致死。某些金属磷化物与水或无机酸作用生成的磷化氢常用于灭鼠药及粮仓熏蒸杀虫剂等。

磷化锌、磷化铝等磷化物的共同特点是遇酸或水均会生成剧毒的磷化氢气体，从而引起人畜中毒或死亡。一般将磷化锌与 20～50 倍的饵料拌制毒饵用于灭鼠，鼠食毒饵后多在数小时内死亡。磷化锌对人畜毒性较大，由于应用范围广泛，容易获得，因而利用该药投毒、自杀的案件常有发生，但误服者比较少见。用磷化氢熏蒸粮仓、货仓灭鼠时，如果仓房结构或贮粮容器不严密，都可造成因吸入磷化氢而引起的中毒或死亡事件。

案例：村民王某有 3 个女孩，最大的 10 岁，最小的 6 岁。夏日的一个夜晚，王某将 3 个孩子安排到自家的一间 20 m^2 粮仓内过夜。次日上午，王某打开房门，发现 3 个孩子神志萎靡，诉口渴，并看到地上有许多稀便及呕吐物，误认为是前一天中午食了死猪肉而发生食物中毒，急忙给 3 个孩子服用止泻药，但毫无疗效，而呕吐、腹泻、口渴症状加重，不一会出现了呼吸困难、烦躁不安，遂将 3 个孩子送到医院。但是抢救无效，3 个孩子相继死亡。

现场勘察见粮仓北侧放一张简易木床（为 3 个女孩睡觉的地方），地面及便盆内可见大量呕吐物及稀水粪便；室内存放有约 2 000 kg 的小麦，粮屯上有少许未分解完的磷化铝药片（系王某昨日购买的 48 片磷化铝药片剩余部分），还有几个标有生产厂家的磷化铝药袋散放在墙角，房间的两扇窗户均用塑料薄膜密封。虽然室内空气无特殊气味，但久留后有窒息感。

尸检见 3 个女孩发育良好，皮肤干燥，无损伤，尸斑呈紫绿色，瞳孔散大，鼻腔内有白色泡沫状液体溢出，口唇及甲床发绀。解剖可见气管及支气管腔内充满白色泡沫状分泌物，管壁轻度充血，出血，两肺饱满，呈水性肺气肿，肺切面有大量白色泡沫状液体流出，心肌、肝、肾淤血，提示 3 个女孩可能吸入某种气体致死。

毒物分析王某的 3 个孩子肺组织中均检出磷化氢，未见其他常见毒物。

磷化物经消化道进入机体后，在胃酸的作用下，逐渐释放出磷化氢。磷化氢在体内可迅速逐级氧化成各种代谢产物：磷化氢（PH_3）→次磷酸（H_3PO_2）→亚磷酸（H_3PO_3）→磷酸（H_3PO_4），五价磷化物为人体正常成分中应含有的化合物，检出磷酸等五价磷化物不能说明问题。若有时体液、组织中检测不出磷化氢原体，需检测其代谢产物次磷酸和亚磷酸。

一、检材处理

疑为口服磷化锌中毒者，一般取其呕吐物、洗胃液进行检测。其呕吐物、胃内容物中往往有未分解的黑色原药粉末存在，可用乙醇反复漂洗，经沉降或过滤后，取黑色粉末进行分析。对于中毒死亡者可取其胃及胃内容物、血、尿、肺及肝组织等进行检测。多数磷化物急性中毒死亡者，常有磷化氢或磷化物存在于胃、肺等脏器中，可直接或加酸后加热使磷化氢气体逸出进行检测。检材采取后应密闭冷藏送检，以防磷化物分解与磷化氢逸失，且应尽快进行检测。

如需检测锌离子，可取胃组织进行有机质破坏。方法为称取胃组织 5～10 g 剪碎，置坩埚中小心烘干后转入高温炉中加热至 600℃灰化 4 h，冷却后加稀盐酸溶解，转移至容量瓶中定容供进一步检测。口服磷化锌急性中毒死亡者，其胃组织中的锌含量可有显著增高，可经有机质破坏后用原子吸收分光光度法进行定量检测。

对于磷化物中毒的检测，不论是何种磷化物及入体途径如何，主要都是针对磷化氢的检测。对疑为口服磷化锌中毒者也可根据需要检测锌离子。

二、检测方法

(一) 磷化氢的检验

磷化氢的检验有化学显色法、顶空气相色谱法和 Ag - DDC 分光光度法等。

1. 化学显色法　利用磷化物在酸性条件下可生成磷化氢并使其从检材中逸出这一性质，用化学显色法对磷化氢进行检识。

一般是将小块滤纸用显色试剂浸渍后晾干，当磷化氢气体通过或接触试纸时，与试剂发生化学显色反应，可根据试纸的颜色变化进行定性或半定量分析。所用装置可用测砷装置。

$$PH_3 + 2HgBr_2 \rightarrow 2HBr + PH(HgBr)_2$$
$$PH_3 + 2HgCl_2 \rightarrow 2HCl + PH(HgCl)_2$$
$$PH_3 + 3AgNO_3 \rightarrow 3HNO_3 + Ag_3P\downarrow$$

硫化氢对上述两种化学显色反应均有干扰，可利用 10%醋酸铅棉花去除。方法为取适量检材于检砷瓶中，用水调成稀粥状，加入 10%盐酸使呈明显酸性，立即安装上事先充填醋酸铅棉花和装有溴化汞或硝酸银试纸的检砷管，在 50℃水浴中加热 30 min，如含磷化物，则试纸变黄或黑。同时做阳性对照和空白对照。

化学显色反应的灵敏度较低，因而仅适用于分析鼠饵、胃内容物等毒物含量较高的检材。

2. 顶空气相色谱法(HS - GC)　磷化物在胃酸作用下，逐渐释放出磷化氢气体，在体内吸收后迅速氧化成亚磷酸，因而在血液和内脏中不易检出磷化氢，但可见出其代谢物亚磷酸。顶空气相色谱法可用于各种生物检材中磷化氢及其代谢物的定性定量分析，并可摒除由于腐败检材产生的硫化氢的干扰。检测前不需预先对样品进行分离浓缩。

色谱条件可采用火焰光度检测器(FPD - P)，选用极性填充柱如 25%聚乙二醇- 20M (PEG - 20M)shimalite101 2 m×3 mm 不锈钢柱，柱温 60℃，气化室温度 130℃，检测器温度 130℃，氮气 50 mL/min。

检测生物检材中磷化氢及其代谢物时，可按以下方法制备样品进行检测。

取剪碎组织或体液 1～2 g(mL)各两份，分别置于气体反应瓶中，加蒸馏水 2～3 mL，其中一份加入锌粉 5 mg，一份不加锌粉，用内有橡皮垫的铝盖封紧瓶口。用注射器注入 20%硫酸溶液 0.5 mL，室温反应 20 min 后将样品瓶置于 45℃水浴中加热 10 min，抽取液上气体 0.1 mL 进样检测。同时作阳性对照和空白对照。

由于磷化氢的代谢产物次磷酸和亚磷酸在酸性条件下与锌作用被还原为磷化氢气体，加锌粉的反应瓶中所产生的磷化氢是由体内代谢产物次磷酸或亚磷酸转化生成的磷化氢及原有的磷化氢的总和。另一份不加锌只加酸，则所得结果为检材中未代谢的磷化氢原体的含量。用加锌检材测得的磷化氢的总量，减去未加锌检材测得的磷化氢的量，即为代谢产物还原为磷化氢的量。

磷化氢定量分析可采用外标法或内标法，用氯仿作为内标物。用标准品次磷酸钠配制成系列标准溶液，添加于空白组织中，按上述样品制备方法加锌粉制备系列标准样品和空白对照样品并进行检测，绘制工作曲线，计算磷化氢含量。方法检测限为 0.5 μg/g。

3. Ag - DDC 分光光度法　磷化氢与 Ag - DDC(二乙基二硫代氨基甲酸银)在有机碱溶液中生成棕红色胶体银，于 465 nm 处有最大吸收，可用于磷化氢的定性分析。检测装置及具体操作参见第十一章 Ag - DDC 检砷法。用标准品次磷酸钠配制成系列标准溶液，添加于空白组织中，制备标准系

列样品和空白对照样品，绘制工作曲线，在0.1～1 μg/mL范围内，磷化氢含量与465和600 nm吸收度的差值成正比，可用于磷化氢的定量分析。

（二）锌的检测

1. 双硫腙反应　许多重金属盐可与双硫腙试剂反应生成有色化合物。但在pH 11以上的碱性条件下，锌离子与双硫腙反应生成玫瑰红色螯合物，可排除其他金属离子的干扰。

```
                C6H5                          C6H5    C6H5
                 |                             |       |
              NHNH                       NH—N       N=N
             /                          /      \   ↗     \
Zn+2S=C                ——→   S=C             Zn            C=S
             \                          \      ↗   \     /
              N=N                        N=N        N—N
                 |                             |       |
                C6H5                          C6H5    C6H5
```

将做完磷化氢检验后的体外检材经过滤或离心后的水溶液，或体内检材经有机质破坏所得酸性水溶液适量，滴加2%氢氧化钠溶液，生成白色氢氧化锌沉淀，继续滴加氢氧化钠至沉淀完全溶解为止，此时pH约为11，取此澄清液加入用氯仿或四氯化碳配制的双硫腙试剂1 mL，振摇后静置，如有锌离子则水层显玫瑰红色。必须同时做空白和已知对照试验。双硫腙试剂不稳定，应临用现配（1～2 mg双硫腙溶于100 mL四氯化碳或氯仿中）。

2. 亚铁氰化锌沉淀反应　原理：锌离子在酸性条件下与亚铁氰化钾试剂反应生成不溶于稀酸而可溶于碱液的亚铁氰化锌白色沉淀。若试剂过量，则生成更难溶的白色亚铁氰化锌钾沉淀。

取部分灰化液加醋酸酸化，加入几滴浓度为50g/L的亚铁氰化钾试剂，若检液中含有锌，则生成白色沉淀。将其沉淀分成两份，一份加入10%的盐酸溶液，一份加入10%的氢氧化钠溶液，观察沉淀的溶解情况。

3. 原子吸收分光光度法　原子吸收分光光度法可用于锌的定性定量分析。锌原子的特征吸收谱线为213.86 nm，该方法专属性强且灵敏度高。检测时用锌标准品加酸配制成锌含量为0.2～1.0 μg/mL的系列标准溶液，与检材前处理酸性水溶液在相同条件下测定，绘制工作曲线，计算检材中锌的含量。试剂中可存在痕量锌，应同时进行空白试验。

锌是人体必需的微量金属元素之一，正常人体每克脏器组织中含锌量为几十微克。原子吸收分光光度法灵敏度高，需同时取正常胃组织进行空白对照试验。

小结

毒鼠强、氟乙酰胺中毒潜伏期短，中毒症状主要是阵发性、强直性抽搐；抗凝血杀鼠剂中毒潜伏期长，严重中毒表现为全身广泛性出血。法医师可根据各自中毒特性初步确定分析方案并合理取材。毒鼠强、氟乙酰胺中毒的体外检材分析可采用化学法和薄层法，体内痕量分析一般用GC或GC-MS分析，氟乙酰胺极性大，GC分析时经衍生化处理则检测灵敏度增大。抗凝血杀鼠剂相对分子质量大，定量分析主要采用HPLC法。磷化物经消化道进入机体后，在胃酸的作用下释放出磷化氢。磷化氢在体内可迅速逐级氧化成各种代谢产物。因此磷化物中毒主要测定磷化氢及其代谢物。

Summary

Toxic symptom of tetramine and fluoroacetamide with short toxicant incubation period are mainly paroxysmal rigid hyperspasmia. Toxicant incubation period of anticoagulant rodenticide is long, and serious toxic symptom is general catholicity hemorrhage. According to respective toxic characteristics medicolegal officer (ME) may preliminary determine analytic program and select detecting material reasonably. Sample analysis of tetramine and fluoroacetamide *in vitro* could use chemical and TLC method, and trace analysis in vivo of them is GC and GC-MS. As fluoroacetamide is macro-polarity, GC analysis can improve the detection sensitivity by derivatization. Quantitative analysis of anticoagulant rodenticide with macromolecular mass mainly uses HPLC. When phosphides enter organism via alimentary tract, it transforms into PH_3 (hydrogen phosphide) by gastric acid. PH_3 *in vivo* can be quickly oxidized to kinds of metabolites step by step. So we should identify phosphide intoxation mostly by determination of PH_3 and its metabolites.

思考题

1. 结合第三章，谈谈本章中所讲的各种杀鼠剂哪些可以用 GC 来检测，哪些不能？能用 GC 的可以选用哪些检测器，不能用说出理由。
2. 硫靛反应的原理？概述其适用范围以及操作中的注意事项。
3. 抗凝血杀鼠剂分为哪几类？各类在用 HPLC 进行检测时所选用的色谱条件是什么？为什么？
4. 怀疑某一死者是无机磷化合物中毒身亡，请问在检材的采取上应注意什么？可以应用哪些方法进行分析？

（山西医科大学法医学院　王玉瑾）

第九章　天然药毒物

要　点	
天然药毒物	天然药毒物指那些同时具有药效和毒性的天然物质及其加工所得的中草药和药物制剂。本章主要介绍乌头、马钱子、莨菪生物碱类、马兜铃酸类、强心苷、秋水仙碱等来自植物的天然药毒物以及斑蝥、河豚、蟾酥等来自动物的天然药毒物。
检材	除血、尿、肝、胃内容物等常规检材外，应特别注意收集动植物的残肢碎片、中草药渣等具有形态特征的体外检材以及与案情相关的同品种动植物或中草药对照检材；对秋水仙碱等药毒物，还应注意根据其体内的分布特点及时采取胆汁等较特殊的生物检材。
检验	天然药毒物具有复杂的特性，了解这些药毒物的来源、用途、形态、成分、毒性、中毒症状、体内过程等方面的知识，对于寻找检验方向、合理制定分析方案和正确做出死因鉴定等都有着重要的意义。 天然药毒物的毒性成分主要为有机化合物，一般可按照非挥发性有机药毒物的方法进行提取分离。由于各种天然药毒物成分的结构性质和毒性差异较大，具体处理检材时，方法需因物而异，除了要考虑毒物性质、检材性状以及检测方法的灵敏度和分离能力等因素外，对一些毒性很大的药毒物，还应注意根据检材中毒药物成分的浓度，对取材量、浓缩体积及进样量等作适当的调整。 天然药毒物的检验涉及化学法、光谱法、色谱法、色谱/质谱联用法、动物试验、形态学鉴定、免疫法等多种分析手段，在掌握这些方法原理的基础上，应注意各种方法的适用场合及结果意义。 由于大多数天然药毒物的成分复杂且中毒检材的浓度低微，用色谱/质谱联用法对其他检验结果进行确证，对确保检验结果的可靠性尤为重要。
相关主题词	药物分析　仪器分析　毒理学　药物学　中草药学　动植物学　药代动力学

动物、植物和矿物等天然物质中，有许多都具有显著生理活性，长期以来，一直被作为中草药使用。这些天然物中，一些活性成分及其结构和理化性质已经明确的，有的已被提取出纯品或经过衍生化加工制成了临床常用的药物制剂。作为药用的天然物质及其加工品，其中一部分是具有毒性的，有些毒性甚至还很强烈，例如，乌头、马钱子、蟾酥、秋水仙碱、硫酸阿托品、地高辛、硝酸士的宁、蟾毒灵等。通常把这些同时具有药效和毒性的天然物及其加工品称为“天然药毒物”。天然药毒物中一些具有成瘾性而被滥用的物质将放在第十章毒品中介绍；还有一些有毒的矿物将放在金属毒物一章中介绍；本章仅选几类毒性较大或有一定中毒特点的动植物类天然药毒物进行介绍。

与其他几类毒物相比，天然药毒物的特点是比较复杂，主要表现在以下几个方面。

1. 中毒原因复杂　除了一般自杀、投毒、意外等常见中毒原因外，中草药使用不当

是导致天然药毒物中毒死亡的一个很重要也很常见的原因,例如过量服用、炮制不当或生品内服、违反配伍原则、外用药酒内服以及品种误用、错用等。

2. 毒物来源复杂　一方面,具有相同名称的植物或有毒中草药可有许多品种,例如,民间被称作"乌头"的中草药就有 50 多个品种,而不同的品种,其毒性成分、组成和含量等并不完全相同;另一方面,同种或同类的毒性成分也可源于完全不同种属甚至不同科的动植物,例如,强心苷成分就广泛分布于世界上十几科上百种高等植物中;此外,一些民间用的中草药名称比较混乱,别名较多,地区性强,甚至有一物多名或异物同名的情况,常有因误用或错用而导致中毒的情况。从毒性成分来源的角度来讲,可源于动植物本身,也可源于中草药、中成药、中药液、药酒以及西药制剂等。

3. 化学成分复杂　一种动植物或中草药中,常可含有几十种甚至上百种的化学成分,具有生理活性的主要为有机化合物,通常有毒的成分也是具有药理活性的成分,含量一般较低。例如,马兜铃植物中,单有机化合物就有菲类、生物碱、萜类、甾体、黄酮等几大类结构性质完全不同的化合物,其中硝基菲羧酸化合物是其主要的毒性成分;又如,蟾酥中含有多种强心甾体类化合物,根据其配基不同目前可分为 13 大类,每一类又包括多种化合物。就同一类天然药毒物来讲,因其品种不同,所含的毒性成分也不完全相同,且成分和含量可随种属、产地、时令、采集加工方式等多种因素而变。迄今为止,甚至还有一些天然药毒物的毒性成分和结构均尚不十分明确。

4. 化学结构和理化性质差异大　从结构来讲,天然药毒物的毒性成分包含了多种不同结构性质的化合物,有吡啶类(烟碱)、有机胺类(秋水仙碱)、莨菪烷衍生物类(阿托品)、喹啉和异喹啉类(奎宁、吗啡)、萜类(乌头碱)等生物碱类化合物;也有硝基菲酸(马兜铃酸)、酸酐(斑蝥素)等酸性化合物以及中性的苷类化合物(强心苷);还有蛋白质类化合物(蛇毒蛋白)等。从分子大小和挥发性来讲,有分子较小易挥发的斑蝥素、烟碱;也有分子很大不能挥发的蛇毒蛋白;大部分化合物的相对分子质量在 300～1 000,其中部分在加热情况下具有一定的挥发性。从酸碱性和溶解性来讲,有酸性的、碱性的,也有呈中性和两性的;有易溶于水的,也有易溶于非极性有机溶剂的,还有的在水或有机溶剂中均难溶的。

5.(药)毒理作用各异且毒性差异较大　天然药毒物的种类很多,药(毒)理作用也多不相同,其中有些毒物具有较典型或特殊的中毒症状和病理改变,可为检验提供一定的方向。天然药毒物的毒性差别很大,有的虽具有一定的毒性,但少量或短时间内正常使用不会导致中毒,而一次大剂量或长期使用可导致中毒;有的毒性非常剧烈,很小量即可导致中毒死亡。也有一些属于用药安全范围非常窄,甚至在正常用药量的情况下使用也可能造成中毒,如地高辛。

6. 检材的性状、组成和含量各异　除一般常见检材种类外,天然药毒物的检材可以是植物的根、茎、叶、花、种子、果实和动物的残肢碎翼等,以及经过加工的中草药、中成药等;也可以是中草药液、药酒、药膏等;还可能是由天然活性成分制成的药片、胶囊、药丸、注射液等药物制剂。这些检材不仅在外观性状上差别很大,其组成、含量也相差甚远。一般来讲,药片、胶囊、药丸、注射液等药物制剂的成分相对比较简单,含量也比较高;动植物及其加工制成的中药成分一般比较复杂,毒性成分含量通常较低;而由多种中草药煎熬的药液、浸泡的药酒、中成药,则成分一般非常复杂。生物检材中的毒物浓度差异也很大,一方面,由于毒性大小不同,不同毒物的中毒检材浓度可相差千倍以上;另一方面,有

一些毒性较大的毒物，由于摄入量和死亡或取材时间不同，所报道的尸体检材浓度差别也不相同。

由于天然药毒物具有上述特点，使其中毒检验也相对比较困难，主要表现在以下几个方面。

1. 确定分析目的物难　一方面，天然药毒物的种类很多，且中毒原因、来源和成分复杂；另一方面，中毒多因意外或投毒所致，当事人常不知实情或为逃避责任而掩盖实情；此外，一些剧毒天然药毒物大多是在当事人患有癌症、心衰、痹症、中毒等重症或顽症的情况下使用，中毒症状易与病症混淆影响判断，当案情不明时，很难确定分析目的物。因此，深入细致地了解案情、中毒症状、解剖所见等以及注意收集动植物的残肢碎片、中草药渣等具有形态特征的体外检材，对于确定天然药毒物的检验方向非常重要。

2. 筛查毒物难　各类天然药毒物的毒性成分结构性质差异较大，很难在同一个条件下提取和检测。特别是一些毒性很大且极性较大、易分解的毒物，如果没有一定的检验方向，盲目地用生物检材按照一般方法和条件进行筛查，即便是高灵敏度的仪器分析方法如 GC、GC - MS 等，也可能造成漏检。

3. 提取分离毒物难　一方面，动植物、中草药本身的化学成分就很复杂，如果使用复方中草药，则成分更为复杂。一般方法很难将毒性成分与其他成分完全分离，即使采用色谱方法也较易出现保留值与毒性成分相同或相近的杂质峰，干扰检测。另一方面，有些毒物如强心苷、河豚毒素、乌头碱、蛇毒蛋白等，本身生物检材中的浓度就很低，加上极性较大或性质不稳定等因素，因此，从检材中提取分离和浓缩都比较困难。

4. 检测毒物难　天然药毒物成分检测难主要有以下几方面的原因：①已知对照品缺乏。有些毒物的成分尚不完全明确，或成分结构虽已明确，但获得纯品较难；②对一些剧毒的天然药毒物来讲，生物检材中的浓度往往很低，加上提取分离困难，很难达到一般分析方法的检测灵敏度，例如，地高辛中毒血的浓度仅为每毫升纳克级，比氰化钾中毒血的浓度要低一个数量级；③成分很复杂的检材，具高分离能力的色谱方法有时也不易将毒性成分与杂质完全分离；④有一些剧毒天然药毒物，因极性大、难挥发或性质不稳定等因素，限制了毒物分析中常用的高灵敏度 GC、GC - MS 等分析方法的应用，这些毒物的中毒检测一直是毒物分析的难题，但随着 LC - MS 方法的发展和普及，这些难题可逐步得到解决。

鉴于天然药毒物及其检测具有上述特点，了解常见有毒动植物和中草药的名称和俗称、成分、形态、分布、用途、毒性大小、中毒症状和病理改变等对中毒检验具有非常重要的意义。检验天然药毒物时，除应用一般理化方法和仪器分析方法外，必要时可配合应用免疫学方法、形态学方法以及动物试验等手段。

第一节　常见天然药毒物介绍

一、有毒植物

（一）乌头

乌头系毛茛科（*ranunculaceae*）乌头属（*aconitum*）植物，具有除湿、祛寒、止痛之功效；主要用于治疗风寒湿痹、关节酸痛麻木、瘫痪、跌打损伤等。国内乌头属植物约有170种，多生长于山地，许多地方均有分布，西南地区比较集中。乌头属植物用作中草药已有悠久历史，由于多数药用乌头的毒性剧烈，因意外、用药不当或用以谋害、自杀等原因造成中毒乃至死亡的（事）案件时有发生。

1. 乌头的成分和毒性

（1）乌头生物碱的结构和毒性　乌头的剧毒成分主要为双酯型的二萜类生物碱。母

体是由 19 个碳构成的乌头胺醇骨架，在 8 位碳和 14 位碳上的醇基与有机酸形成酯后成为毒性剧烈的生物碱。早期只知道醇基可与乙酸和苯甲酸形成酯，后发现也有大茴香酸(anisic acid)参与成酯的，还有在 3 位碳上形成酯结构的。部分结构已明确的双酯型生物碱的母体结构和取代基以及部分生物碱的毒性见表 9－1。

表 9－1　乌头类双酯型生物碱的母体结构和取代基以及部分生物碱的毒性

名　　称	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	小鼠 LD_{50}/(mg/kg)
乌头碱(aconitine)	C_2H_5	OH	OH	Bz	OH	0.12(i. v.)，0.32(s. c.)
中乌头碱(mesaconitine)	CH_3	OH	OH	Bz	OH	0.12(i. v.)，0.23(s. c.)
次乌头碱(hypacontine)	CH_3	H	OH	Bz	OH	0.47(i. v.)，1.19(s. c.)
滇乌碱(yunaconitine)	C_2H_5	OH	OH	As	OH	0.05(i. v.)
乙酰乌头碱(3－acetylaconitine)	C_2H_5	CH_3COO	OH	Bz	OH	1.4(s. c.)
脱氧乌头碱(deoxyaconitine)	C_2H_5	H	OH	Bz	OH	
粗茎乌碱甲(crassicauline)	C_2H_5	H	OH	Bz	H	
雪乌碱(penduline)	C_2H_5	H	H	Bz	OH	
黄草乌碱丙(vilmorrianine)	C_2H_5	H	H	Bz	H	
丽乌碱(liwaconitine)	C_2H_5	OH	OH	As	OH	
印乌碱(indaconitine)	C_2H_5	OH	OH	Bz	OH	

注：1. Bz＝C_6H_5CO，苯甲酰基；As＝$CH_3OC_6H_4CO$，大茴香酰基；

2. 丽乌碱：即乌头碱 8 位 C 上的乙酸酯结构被大茴香酸酯结构取代；

3. i. v.　静脉给药；s. c.　肌肉给药。

双酯型乌头生物碱的酯结构很不稳定，极易水解。通常先水解失去一个乙酰基成为毒性低得多的单酯型生物碱，随后再失去苯甲酰基或大茴香酰基成为几乎无毒性的胺醇类化合物。乌头中药炮制机制是通过加热水解降低毒性。双酯型生物碱对小鼠的 LD_{50} 大多在 0.055～5 mg/kg 范围，单酯型生物碱对小鼠的 LD_{50} 一般大于 6 mg/kg。

(2) 乌头的种类和毒性　各地民间用药和民族用药中来自乌头属植物的品种很多，约有 50 余种，多为当地野生植物，较少流通，地区性较强，有一物多名和异物同名的情况。我国药典收载的乌头属中药有川乌、附子和草乌，生品均属于剧毒中草药管制品种。川乌和附子的原植物为乌头(*Aconitum carmichaeli Debx.*)，系栽培植物，主产于四川等地，其主根称川乌，侧根为附子。草乌的原植物为北乌头(*A. kusnezoffii Reichb.*)。由于各种乌头所含的有毒成分及其含量不同，毒性也有较大差别。已知毒性较强的有 30 种左右，多含双酯型生物碱，对小鼠的 LD_{50} 一般在 200 mg/kg 以下，表 9－2 中列出

10种，供参考。这些乌头不但所含的有毒化学成分不同，而且同一品种中同种成分的含量也因产地、季节不同等原因可有所差别。此外，还有一些毒性较强的乌头类中草药，所含的毒性成分至今尚不明确。

乌头中也有一些毒性较小或认为无毒的，对小鼠的 LD_{50} 在 1 500～3 500 mg/kg，如新疆的空茎乌头(*A. apetalum*)，贵州的高乌头(*A. sinomontanum*)，主产于东北制成中药关白附的黄花乌头(*A. coreanum*)，藏药称为榜嘎的船盔乌头(*A. nariculare*)，内蒙、河北、山西等地的牛扁(*A. barbatum*)以及产于川、黔、滇、晋、豫等省的花葶乌头(*A. scaposum*)等。烈性乌头的中毒致死量因产地、品种及炮制方法等不同而异，一般生川乌中毒量约3～4 g，生草乌1.5～4 g，炮制附子30～60 g，纯乌头碱(aconitine)0.2 mg即可使人中毒，2～4 mg可导致死亡。纯乌头碱中毒的情况比较罕见，通常为中草药中毒。

表9-2 一些乌头属中草药的主要毒性成分和毒性

名称	原植物种名	产地	别名	主要毒性成分	LD_{50}*
大渡乌头	*A. franchetii*	川西	草乌	印乌碱 展花乌头碱 大渡乌碱	24
多根乌头	*A. karakolicum*	新疆	草乌	乌头碱 脱氧乌头碱	29
丽江乌头	*A. forrestii*	云南		丽乌碱 滇乌碱	45
黄草乌	*A. vilmorianianum*	云贵	草乌 小黑牛 藤黄	草乌碱丙 滇乌碱	84
北乌头	*A. kusnezofii*	东北	华北草乌	中乌头碱 次乌头碱 乌头碱	9
铁棒锤	*A. pendulum*	滇 四川甘肃	雪上一枝蒿	雪乌碱 乌头碱 次乌头碱	134
乌头	*A. carmichaeli*	四川	川乌	中乌头碱 次乌头碱 乌头碱	137
短柄乌头	*A. brachypodum*	云南 四川	雪上一枝蒿	乌头碱 次乌头碱	165
粗茎乌	*A. crassicauli*	云南		粗茎乌碱甲	198
瓜叶乌头	*A. hensleyanum*	川陕 湖北	草乌 藤乌 羊角七	滇乌碱	202

*：LD_{50} 为小鼠按 mg/kg(干燥根)i.v. 给药。

(3) 中毒症状 乌头生物碱可经胃肠和破损皮肤很快被吸收，中毒发作和死亡较快，一般在10 h内死亡。乌头碱主要作用于神经系统和心血管系统，除一般消化道症状外，口舌发麻及至四肢全身发麻是乌头中毒的特点之一。此外，因乌头碱能直接作用于心脏，可导致严重的心律失常。文献报道的乌头中毒尸血的浓度一般在1～20 ng/mL，也有高达650 ng/mL的；尿中浓度相对较高。

2. 理化性质和检验 乌头生物碱为中等极性的有机生物碱，相对分子质量较大，易溶于氯仿、乙醚、乙醇、甲醇等溶剂，不溶于水、石油醚；弱碱性，可与酸成盐，其盐溶于水和多种极性有机溶剂。毒性较大的双酯型乌头生物碱性质不稳定，酯结构在水溶液中，尤其是在碱性条件下极易水解，即使纯品在醇溶液中放置数日也可见其浓度明显下降。因此，提取过程中应注意防止水解并及时检验。

对乌头生物碱无特殊、灵敏的化学反应，检验主要以色谱法和色谱/质谱联用法为主。由于乌头种类繁多、成分复杂，在炮制、贮存和检材处理过程中还可生成各种水解产物，中毒检材的色谱图常比较复杂，有时检材中毒性成分的保留值与所用已知对照品的保留值可能不吻合，有时也可能与其他成分的保留值相重合。因此，为了防止漏检或误检，需了解各种乌头品种的成分，尽可能采用多种乌头生物碱和相关品种的中草药进行对照检验，并用质谱进行确证；单凭色谱保留值进行

定性须非常慎重。由于代谢、水解等原因，有时检材中可能查不到乌头生物碱原药，必要时，可对其水解产物单酯型生物碱或乌头醇胺进行检验。乌头生物碱的相对分子质量较大，难以气化，不适合用一般的 GC、GC－MS 检测，检验以液相色谱为主。近年来，随着 LC－MS 的发展，此法将逐渐成为乌头生物碱检测的重要手段。

（二）马钱子碱

马钱子又名番木鳖，是马钱科植物马钱（*Strychnos nux vomica L.*）或云南马钱（*Strychnos pierriana A. W. Hill*）的干燥成熟种子。马钱子主产于印度、越南、泰国等国家，云南马钱子产于我国云南南部。马钱子中主要含有士的宁（strychnine，又名番木鳖碱）和马钱子碱（brucine，又名布鲁生）等生物碱。海南马钱和密花马钱等其他马钱属植物的种籽以及吕宋豆等也含有士的宁。

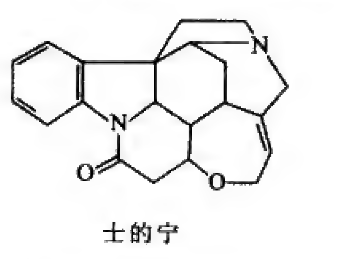
马钱子是常用的中草药，主治风湿顽痹、麻木瘫痪、跌打损伤、小儿麻痹后遗症等；士的宁的硝酸盐在临床用上作脊髓中枢兴奋药；马钱子碱的生物活性比士的宁的弱，主要用作化学试剂；马钱子浸膏或粗制士的宁有时被用作毒品掺加物；士的宁在民间也有被用来灭鼠和猎兽的。

士的宁或马钱子中毒在国外多因自杀、他杀或吸毒，我国多因中草药使用不当所致，偶有自杀或谋害的。

1. 毒性和体内过程　中药马钱子有剧毒，生品属于剧毒中草药管制品种。硝酸士的宁的治疗量与中毒量接近，常用口服量为 1～3 mg，成人一次口服 5 mg 即可出现中毒症状，致死量一般为 30～100 mg；成人皮下注射极量为 5 mg，小孩皮下注射 5 mg 即可能导致死亡。马钱子碱的毒性较小，仅为士的宁的 1/8～1/10。士的宁是极强的中枢兴奋剂，尤其对脊髓有高度的兴奋作用，大剂量可反射性引起强烈的脊髓冲动，造成全身骨骼肌收缩、剧烈痉挛。一般口服 15～30 min 即可出现中毒症状，主要表现为呼吸困难、颈项僵直、牙关紧闭、痉笑、双目凝视、瞳孔散大、全身强直性痉挛、角弓反张等。死亡一般在摄入后 1～6 h 内，也有延至更长时间的。尸僵发生早而强，持续时间长，常出现四肢痉挛性屈曲，足趾明显内翻伸展，手臂位于胸前呈握拳状，中毒症状比较特殊，对寻找检验线索具有一定的意义。

士的宁吸收快，排泄较慢，消除半衰期为 10～12 h，在体内有一定的积蓄作用。文献报道的中毒尸血浓度大多在 0.4～6 μg/mL。

2. 结构性质及检验　士的宁和马钱子碱均为吲哚类生物碱，结构相似（图 9－1），区别在于马钱子碱的苯环上多两个甲氧基；纯品为白色结晶或结晶性粉末，易溶于乙醇和氯仿，几乎不溶于乙醚，难溶于水；分子中有两个氮原子，其中成酰胺结构的碱性较弱，另一个氮原子碱性较强，士的宁的 p*K*a（25℃）为 2.3 和 8.0；碱性较强的氮原子可与酸成盐而溶于水，不溶于乙醚，但氯仿中有一定的溶解度。



士的宁

$C_{21}H_{32}O_2N_2=334.4$

马钱子碱

$C_{23}H_{36}O_4N_2=394$

图 9－1　士的宁和马钱子碱结构式

马钱子生物碱具有较典型的生物碱性质，化学方法、光谱法及各种色谱法均可用于检验；利用其强脊髓兴奋作用导致的特殊痉挛症状，也可通过动物试验进行检验；中药渣等检材中的马钱子可通过形态学方法鉴定。马钱子生物碱的化学性质稳定，中毒死亡埋葬数年的尸体，取其内脏腐泥用高灵敏度的方法仍有检出的可能。

（三）莨菪烷生物碱

莨菪碱（hyoscyamine，又名天仙子胺）最早是从欧洲茄科颠茄属植物颠茄（*Atropa belladonna L.*，又称美女草）的根和叶中提取出来的，后来发现许多茄科不同属的植物中都含有类似结构的生物碱，其中植物含量较高、生物活性较强的还有东莨菪碱（scopolamine，又名天仙子碱 hyoscine）、山莨菪碱（anisodamine）和樟柳碱（anisodine），这些化合物统称为"颠茄生物碱"（belladonna alkaloids），由于这些化合物都含有莨菪烷结构，故又称"莨菪烷生物碱"（tropane alkaloids）。有不少含莨菪烷生物碱植物的加工品以及从中提取出来的活性成分都是临床常用的中草药和西药。

常用的含有莨菪烷生物碱的中草药有洋金花（又称风茄花）、天仙子、三分三等，分别源于茄科不同属种植物的不同部位（表 9－3），其中所含生物碱的种类及含量也稍有差别，主要用于解痉、镇痛、止咳、平喘等，也有用作中药麻醉汤的。

表 9－3　三种含莨菪生物碱中草药的来源和药用部位

中药名	属名	植　物　名	药用部位
洋金花	曼陀罗	白曼陀罗 *Datura metel L.*（南洋金花）	干燥花
	曼陀罗	毛曼陀罗 *D. innoxia Mill.*（北洋金花）	
天仙子	莨　菪	莨菪 *Hyoscyamus niger L.*	干燥种子
	赛莨菪	三分三 *Anisodus acutangulus* C. Y. Wuet C. Chen	
三分三	赛莨菪	赛莨菪 *Scopolia carniolicoods* C. Y. Wu et C. Chen	干燥根

提取出来的莨菪碱、东莨菪碱、山莨菪碱（代号 654）和樟柳碱等纯品均为临床抗 M 胆碱药物，药用效果稍有差别。其中莨菪碱在植物中具有旋光性，经提取后得到的是外消旋化合物，一般被称作阿托品（atropine），临床上常用于有机磷农药中毒抢救、解除平滑肌痉挛、散瞳以及麻醉前给药等；东莨菪碱还常用于震颤麻痹、狂躁性精神病等；山莨菪碱也用于感染中毒性休克、血管性疾病、各种神经痛等。临床所用药物制剂均为生物碱盐的形式，阿托品一般用其硫酸盐，其他三种生物碱为氢溴酸盐。

莨菪烷生物碱类中毒多因意外所致，如小孩误食植物果实、种子；过量饮入药酒或中药液；农药中毒抢救时用药过量等；也有通过投毒进行麻醉抢劫或他杀的；自杀多采取吃和咀嚼曼陀罗种子的方式。

1. 毒性及体内过程　阿托品和东莨菪碱的毒性较大，硫酸阿托品一次口服极量为 1 mg，一日口服极量为 3 mg；一次注射极量为 2 mg，用于有机磷中毒和阿－斯综合征时一般根据病情决定用量；氢溴酸东莨菪碱一次口服极量为 0.6 mg，一日极量为 2 mg，一次皮下注射极量为 0.5 mg，一日注射极量为 1.5 mg。硫酸阿托品口服中毒量为 5～10 mg，致死量约 50～130 mg。植物或中草药类中毒量的范围较大，因植物种类、部位等而异，一次口服 5～8 枚蔓陀罗果实即可能引起中毒。山莨菪碱和樟柳碱的毒性较阿托品和东莨菪碱的低。

莨菪烷生物碱类的毒性主要表现为因阻断 M 胆碱反应系统而产生的一系列对抗乙酰胆碱作用的症状，如抑制各种腺体分泌，平滑肌松弛，心脏迷走神经麻痹等。植物中毒

一般在几小时内发作，如果直接摄入莨菪烷类生物碱药物，10～20 min即可出现中毒症状，主要表现为颜面潮红、口干、吞咽及排尿困难；瞳孔散大，光反射消失；心动过速，兴奋，狂躁不安，幻觉，谵语，手足舞蹈；进一步发展为抽搐、昏迷、血压下降、心力衰竭等。尸检可见瞳孔明显散大。

莨菪烷生物碱在体内的吸收、分布和排泄都比较快，吸收后迅速分布于全身各组织，血中浓度迅速下降，按1 mg静注或肌注给药，20～30 min血中浓度即降至5 ng/mL或更低。阿托品的消除半衰期$t_{1/2}$仅为2～3 h，24 h内90%左右都从尿中排出。应注意阿托品在儿童和老年人体内的$t_{1/2}$延长，儿童平均$t_{1/2}$为4.8 h，老年人平均$t_{1/2}$为10 h，多次给药更易导致中毒。因大部分阿托品原药在较短时间内从尿中排泄，尿中药物浓度常高于血中浓度，应注意取材。莨菪生物碱中毒量低，且消除快、易水解，涉及中毒时应及时取材，尽快检测；受摄入量、取材时间、检材腐败程度、提取时分解等因素影响，中毒检材的浓度可有较大的差异。

2. 结构性质及检验　莨菪烷类生物碱为由莨菪烷衍生的氨基醇与有机酸形成的酯类化合物，结构相似，四种常用生物碱结构如图9-2。此类生物碱易溶于乙醇、氯仿、乙醚等有机溶剂，难溶于冷水；具有一定碱性，阿托品pKa(20℃)为9.9，东莨菪碱pKa(23℃)为7.6，可与酸成盐而易溶于水；结构中的酯键易水解，遇酸、碱、热则水解加速，提取分离时应注意减少水解发生。

图9-2　四种莨菪烷生物碱结构式

各种色谱方法在此类药毒物的检验中均有应用；此外也可利用动物试验对毒物的扩瞳作用进行检验或通过形态学方法对植物、中草药等体外检材进行鉴定。

（四）秋水仙碱

秋水仙碱(colchicine)最早是从欧洲百合科秋水仙属植物秋水仙(*Colchicum autumnale L.*)的球茎中分离出来的一种生物碱。此后，又相继从许多百合科同属植物或其他属植物中分离出秋水仙碱及其类似化合物近30种，这些化合物被统称为秋水仙生物碱(colchicine alkaloids)。在我国一些百合科植物中也发现有秋水仙碱，例如，中草药中云南丽江山慈菇、食用的新鲜黄花菜(又名金针菜)等。秋水仙碱作为治疗急性痛风性关节炎药物已有一百多年的历史；近年来，因发现秋水仙碱对细胞有丝分裂具有很强的抑制作用，能抑制癌细胞的生长，被用于治疗各种癌症。药物制剂有片剂、油膏以及复方制剂争光81等。

秋水仙碱中毒多因食用新鲜黄花菜时烹饪方法不当所致；也有因植物外形或名称与某些蔬菜或中草药相似，而误(服)食用导致中毒的(案例9-1)；此外，因秋水仙碱的毒性较大，用药不当也可导致中毒；国外还有用秋水仙碱药物自杀或投毒的。

案例 9-1：某男，因咳嗽自用土贝母 50 g，加梨和冰糖蒸服。服后约 8 h 出现腹痛、恶心伴频繁呕吐、腹泻、水样便，心率 120 次/分，尿蛋白+++，最后出现中毒性休克伴多脏器损害。

此案例中所用的土贝母，实为百合科益辟坚属植物云南丽江山慈菇（*Iphigenia indica Kunth et Benth.*）的鳞茎，因外形与常用止咳中药川贝母相似，在部分地区被称作土贝母或草贝母，常因误作川贝母服用导致中毒。中草药混淆是导致天然药毒物中毒的常见原因之一，了解一些易于混淆的品种有利于中毒检验。

1. 毒性及体内过程　秋水仙碱日用口服治疗极量为 3 mg，致死量约 20～30 mg。体内消除半衰期较长，约 23～41 h，连续使用易导致蓄积中毒，曾有连续 5 天每日口服 6 mg 导致死亡的。据报道，秋水仙碱本身的毒性较小，其代谢产物氧化二秋水仙碱（oxydicolchicine）的毒性很大，对消化系统和泌尿系统均可产生强烈的刺激作用，并能抑制造血细胞的生成，对神经中枢和平滑肌有麻痹作用。中毒时首先出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻等消化道症状，随后出现血尿、电解质紊乱、手足麻痹、四肢酸痛、肌肉痉挛、休克，严重者可因呼吸麻痹而死。

秋水仙碱口服后迅速吸收，在体内主要经肝脏代谢为氧化二秋水仙碱、去甲基秋水仙碱以及酰胺侧链水解等，从胆汁和肾脏排泄。秋水仙碱按 1 mg 口服给药，治疗血浆峰浓度大致为 2～8 ng/mL，稳态血浆浓度为 0.3～2.4 ng/mL。秋水仙碱的血浆分布半衰期很短（约 20 min），吸收后血中浓度迅速下降，加上口服中毒少有在很短时间内死亡的，大多在摄入 20～50 h 并经历极度痛苦和抢救后死亡，报道的中毒死亡血中浓度，因取血和死亡时间不同有较大的差异，大多在 10～250 ng/mL；也有一些明显中毒死亡的，尸血中甚至检测不到秋水仙碱，故秋水仙碱中毒时应及时取材。此外，有文献报道，秋水仙碱在白细胞内的浓度至少要比血浆浓度高 16 倍，结果提示用全血测得的浓度可能要比血浆浓度高，在区别正常治疗浓度和中毒血浓度时应考虑血样种类的影响。

可能由于肝肠循环的作用，秋水仙碱中毒死亡时，胆汁中的浓度常远高于其他检材中的浓度，曾有 3 例秋水仙碱中毒的报道，血、肝和胃内容物浓度均在 70 ng/mL 以下，甚至未检出，而胆汁浓度却高达 3 000～6 000 ng/mL；其次是尿中的浓度比较高。因此，怀疑秋水仙碱中毒时，取血时最好同时取胆汁和尿液，必要时可对胆汁和尿液进行检测。但应注意，如果曾有秋水仙碱用药史，可能导致胆汁浓度增高，结果判断时需慎重。

2. 结构性质及检验　秋水仙碱为环庚三烯醇的衍生物（结构式如图 9-3），一般因含有 1～5 分子结晶水而呈浅黄至绿黄色，遇光颜色变深；结构中的 N 原子以侧链上酰胺状态存在，故基本呈中性，不能与酸成盐；易溶于水、乙醇和氯仿，溶于苯、戊醇，微溶于乙醚（1∶160）。无水秋水仙碱在冷水中的溶解度下降。秋水仙碱遇光不稳定，提取和检验时应尽量避光操作。生物检材中秋水仙碱的检测常用免疫法、HPLC、HPLC-MS 等。

图 9-3　秋水仙碱结构式（相对分子质量 399.44）

（五）钩吻

钩吻为马钱科胡蔓藤属野生常绿缠绕藤本植物胡蔓藤（*Gelsemium elegang Benth*）的全草（图 9-4），主要分布于两广、云贵、闽



图 9-4 钩吻植物
1. 枝 2. 根

浙等地。钩吻民间俗称很多,古代有关中草药书籍中记载的名称也各不相同,常见的有野葛、冶葛、胡蔓草、断肠草、吻莽、烂肠草、虎狼草、黄藤、大叶茶、大炮茶、黄猛菜等。钩吻中含有多种吲哚类生物碱,现已鉴定的有十余种,以钩吻素子(koumine)含量最高,其他主要还有钩吻素甲(gelsemine,异名钩吻碱、钩吻碱丑)、钩吻素乙(golsemicine)、钩吻素丙(sempervirine)、钩吻素丁(koumicine)、钩吻素戊(koumidine)、钩吻素己(gelsenicine)、钩吻素庚(gelsenidine)、钩吻素寅(koumi-nicine)等。各地钩吻植物所含生物碱的种类和含量有所不同。钩吻具有祛风、攻毒、消肿的功能,中医常用来治疗疥癞、湿疹、疔疮、风湿痹痛、神经痛等,近年来在研究治疗肿瘤和神经痛等方面也取得了一定的进展。

钩吻中毒常因名称混乱,易与其他中草药名相混淆而导致误用;或因外观形态相似而被采作凉茶等饮用导致中毒;也有利用钩吻植物自杀或谋害他人的。

中草药中的卫茅科植物雷公藤,在一些地方也被称作断肠草、烂肠草等,有大毒,但其毒性成分、药效和毒理作用均与钩吻不同,应注意区别。

1. 毒性 钩吻全株有毒,尤以嫩芽和嫩叶的毒性特别大,几个嫩芽或几片嫩叶即可导致中毒死亡;根叶的中毒致死量大致在 2~3 g。钩吻生物碱主要为神经毒,不同的生物碱毒性大小和毒理作用不完全相同。报道的钩吻生物碱的致死量多在 0.15~0.3 g,其中以钩吻碱寅的毒性最大。中毒时首先表现为口腔及咽喉灼痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻、腹胀等消化道症状;继而出现眩晕、语言含糊、吞咽困难、四肢无力以及复视、眼睑下垂、视力减退、瞳孔散大等类似阿托品中毒的症状;心率先慢后快,血压下降;呼吸先快后慢,呼吸困难、有类似破伤风样痉挛;最后因呼吸中枢麻痹窒息而死,死时大部分意识清醒,呼吸停止后,心跳仍存。死亡一般在摄入后 4~7 h,尸检可见各脏器充血,心肌断裂,心室血深红流动。钩吻中毒时,应注意通过从死者胃内容物或中药渣中寻找钩吻植物的残根、茎、叶等碎片线索。

2. 结构性质及检验 钩吻生物碱主要为氧化吲哚型生物碱,钩吻素子、钩吻素甲和钩吻素乙的结构如图 9-5。一般难溶于水,易溶于乙醇、乙醚、氯仿等多种有机溶剂;具有碱性,可与酸成盐而溶于水;化学性质比较稳定。各种色谱分析方法均可适用于检测,但钩吻成分复杂,色谱结果最好用质谱确证。

(六) 马兜铃酸

马兜铃酸是马兜铃科马兜铃属植物共有的一类化学成分,常见的有马兜铃酸 A、马兜铃酸 B、马兜铃酸 C 等,其中以马兜铃酸 A 含量最高,分布最广,自然界中含有该成分的植物达 200 余种,广泛分布于热带和亚热带地区,我国约有 40 余种。据世界典籍记载,有近 70 种含马兜铃酸的植物被世界各民族用于治疗疾病,植物的根、茎、果实和全草均有入药,国内常用含马兜铃酸的中草药有关木通、广防己、马兜铃、天仙藤、青木香、寻骨风、朱砂莲等。含马兜铃酸的中草药很少单独使用,一般多与其他中草药组成复方水煎剂或中成药,主要用在一些治疗肝病、结石、湿疹、上火、妇女白带、止咳化痰、通乳、心脏疾病,甚至减肥美容的中药制剂中。以往批准的复方中药制剂中配有关木通的就有 40

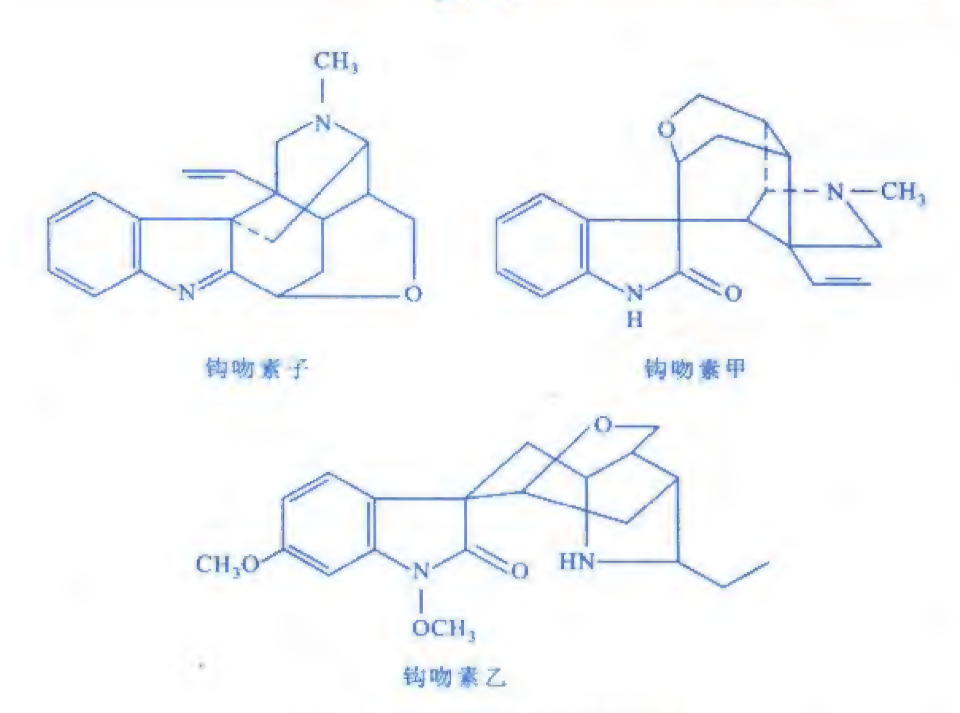


图 9－5　三种钩吻生物碱结构式

余种，如龙胆泻肝丸、导赤丸、妇科分清丸等；还有一些配有青木香、马兜铃、广防己和朱砂莲的。

早在 20 世纪五六十年代，欧美学者就已经证明马兜铃酸具有肾脏毒性，80 年代德国学者又发现了马兜铃酸可引起基因突变，并证明了马兜铃酸对鼠类有强烈的致癌作用，但并未引起医学界足够的重视。自 1993 年起，比利时学者发表了一系列妇女因服用中草药制剂减肥导致肾脏损害的案例（案例 9－2），由此才引起国际医学界对马兜铃酸所致肾脏损害问题的高度关注，同时也引起了国内外对中草药毒性的重视。国外学者将由马兜铃酸引起的肾疾患称为“中草药肾病”（chinese herb nephropathy，CHN），我国称之为“马兜铃酸肾病”（aristolochic acid nephropathy，AAN）。有些国家已先后限制进口和销售含有马兜铃酸的中草药及其制剂，或对马兜铃酸成分和含量实施检查。我国食品与药品监督管理局也发出通知，要求将国家标准处方中马兜铃科的关木通全部用不含马兜铃酸的木通科白木通替换，广防己用不含马兜铃酸的防己科粉防己替换。

案例 9－2：1993 年比利时学者 Vanherweghen 等首先报道了 2 例女患者在服用中草药制剂减肥治疗后，出现进行性肾损害，肾间质纤维化。截止到 1998 年，已发现有 100 余人因服用同样的减肥药导致慢性肾损害，其中 1/3 患者接受了肾移植。经色谱分析发现减肥胶囊中含有马兜铃酸，由于减肥制剂中新增中药防己科粉防己被误用成了马兜铃科广防己，因此而引入马兜铃酸。

马兜铃酸中毒的主要原因为过量或长期服用含马兜铃酸的中草药制剂。含马兜铃酸的中草药可能是因治疗需要加入的；也可能是因为种类混淆误用的，例如，将广防己用作粉防己，将关木通用作白木通；以后还可能出现因为假药、劣药生产商违反有关规定，以含马兜铃酸的药物充替不含马兜铃酸药物的情况。

与烈性毒物不同，马兜铃酸中毒，一般不会在用药后短时间内死亡，对一些长期小量用药的病人甚至在较长一段时间内也不一定会有明显的不适感觉。所以，医患双方都很

难及时发现和意识到中毒；即使尸解可见病理改变，因非急死，也易被法医忽视中毒的可能或误认为是其他原因所致的肾脏疾病。以往法医关注的主要为因投毒、自杀、意外导致的急性中毒死亡案件，而对用药所致的非死亡性中毒案件相对涉及较少。随着公民法律意识的增强，医疗纠纷的案件越来越多，对因中草药所致的慢性或非死亡性的中毒鉴定也应引起法医界的重视。

1. 毒性 马兜铃酸化合物被吸收后，在体内排泄较慢，有一定的蓄积作用，如果短期内（甚至一次）大剂量摄入或持续小剂量摄入，可造成急、慢性中毒，但很少在短时间内死亡。

马兜铃酸主要为肾毒性，可导致肾间质纤维化、肾小管坏死，最后发展为肾衰竭；此外，还具有致癌作用，尤其是易导致泌尿系统癌变。马兜铃酸肾病的临床和病理表现为多样化，与用药剂量、用药周期以及所处的病变阶段有关，主要有以下三种类型：①急性马兜铃酸肾病。一般在短期甚至一次大剂量用药后发生。主要表现为非少尿性或少尿性急性肾衰竭，病理可见急性肾小管坏死。②慢性马兜铃酸肾病。多因持续小剂量用药所致，也可因重症急性马兜铃酸肾病不愈发展而致。临床主要为慢性肾小管、肾间质病表现，病人多首先出现夜尿多，而后逐渐出现各种肾衰竭症状。病理可见肾间质纤维化，肾小管萎缩或消失。③肾小管功能障碍型肾病。多发生在间断小剂量用药后数月。临床主要表现为肾小管酸中毒和（或）Fanconi 综合征，同时伴有肾小管浓缩功能障碍，出现乏力、口渴、多饮、多尿、夜尿增多等症状。病理改变主要为肾小管变性及萎缩。

2. 结构性质及检验 马兜铃酸是一类硝基菲羧酸化合物，以马兜铃酸 A 最为常见。马兜铃酸 A 纯品为黄色，熔点 279℃（分解）；因结构中含有羧基（图 9－6），极性较大，且具有较强的酸性，溶于醇、醋酸乙酯、乙醚、氯仿等溶剂，也可与碱成盐而溶于水。

图 9－6 马兜铃酸 A 结构式

对于急性中毒者，应及时取血、尿等检材，可用 CE、HPLC、HPLC－MS 等方法检测；但对小剂量慢性中毒者，特别是停药一段时间后所取的检材，由于药毒物已排泄，则有可能查不出马兜铃酸了。因此，及时发现中毒和取材对马兜铃酸中毒的检验来讲非常关键。一般根据病史、用药情况、临床检验结果以及病理改变等不难发现马兜铃酸中毒的线索；了解含马兜铃酸的中草药及其常见的制剂品种，也有助于寻找检验方向。在体内检材未检出马兜铃酸的情况下，及时收集中毒者用剩的药物并进行鉴定，对案件分析也可起到一定的作用。

通过理化方法检测生物检材中药毒物的原形，是以往判断中毒的主要方法和重要依据。有时虽然从案情分析可能是某种毒物中毒，但由于种种原因，从生物检材中已无法检测到药毒物原型。在这种情况下，如何证明中毒者曾经使用过此种药毒物是法医学的一个难点。随着 DNA 分析检测技术的发展，通过对 DNA 加合物的检测，可望成为解决此类问题的一个途径。

DNA 加合物是化学毒物经生物转化后的亲电活性产物与 DNA 分子特异位点形成的共价结合物，是 DNA 分子化学损伤的最重要和最普遍的形式，是一种分子水平暴露标志物。检测 DNA 加合物能够提供化学毒物的代谢活化信息，间接

证明曾受到过某种化学毒物的侵害。马兜铃酸进入人体后，代谢形成马兜铃内酰胺，进一步与DNA形成加合物。国外已从马兜铃酸中毒者的胃、肝、肾、膀胱等组织中检测出马兜铃酸特异性DNA加合物，主要有脱氧腺苷-马兜铃内酰胺Ⅰ(dA-AAⅠ)、脱氧鸟苷-马兜铃内酰胺Ⅰ(dA-AAⅠ)和脱氧腺苷-马兜铃内酰胺Ⅱ(dA-AAⅡ)。

（七）强心苷

强心苷(cardiac glycosides)是一类具有强心作用的甾体苷类化合物，存在于许多有毒植物中，现已发现几十个科、数百种植物中含有强心苷类化合物，尤以玄参科、夹竹桃科植物最为普遍。强心苷是治疗充血性心力衰竭及心律紊乱等心脏疾患的重要药物。植物洋地黄叶、夹竹桃叶、万年青根等都是常用中草药。有一些强心苷化合物已被提取出纯品制成了西药片剂和针剂，常用的有地高辛(digoxin，又名异羟基洋地黄毒苷)、洋地黄毒苷(digitoxin)、毛花苷丙(lanatoside，又名毛花洋地黄苷、西地兰C cedilanid C)、去乙酰毛花苷丙(deslanoside，又名西地兰D cediland D)等。还有一些是从植物中提取出来的混合苷，如毒花毛苷K(strophanthin K)、羊角拗苷(divasid)、万年青总苷(rodealin)、黄夹苷(thevetosid)、铃兰毒苷(convallatoxin)等。

强心苷药物的治疗量与中毒量非常接近，用药过量是导致中毒的主要原因；民间中毒则多因误食含有强心苷的植物或听信偏方滥用强心苷植物治病所致，如因误信夹竹桃可治疗精神病而服用导致中毒，也有出于自杀或流产为目的滥用含强心苷植物导致中毒的。此外，偶有利用强心苷植物投毒的。

1. 毒性及体内过程　强心苷类药毒物的毒性很大。一般服用含强心苷的植物的叶、果等2～3 g即可引起中毒和死亡，如煎服夹竹桃鲜叶10余片即可中毒。强心苷西药制剂日用极量一般不超过2 mg。此类药物在体内排泄较慢，如果使用不当或长期用药很容易导致积蓄中毒。强心苷类药物的中毒量和致死量受个体差异影响较大，如年龄、身体状况、联合用药等因素，初用药者(2周内)和长期用药者(8周以上)更易发生中毒。

急性植物中毒一般发生在食后2～5 h。药物制剂因种类和给药方式不同，吸收快慢不等，中毒发生的快慢也不同。中毒时首先表现为消化道症状，恶心、呕吐、腹痛等，有时可出现腹泻；神经症状主要为头痛、头晕和视力障碍；强心苷类中毒的特点是具有极强的心脏毒性，可抑制心脏的传导系统和兴奋异位节律点从而导致各种心律失常，如心动过速、期前收缩、房室纤颤、房室阻滞等。

强心苷类药物的吸收和排泄快慢因种类不同而异。口服洋地黄毒苷，起效慢，8～12 h方可达到作用高峰；代谢物主要为苷的水解产物及羟基化成地高辛，代谢产物均有生理活性；体内排泄也很慢，$t_{1/2}$长达3～16天，单次口服需2～3周方可从体内排完；血浆蛋白结合率高达95%，仅很少量分布于红血球中，所测得的血浆浓度与全血浓度可相差较大。洋地黄毒苷治疗血清浓度一般为10～30 ng/mL，中毒浓度大于30 ng/mL。

口服地高辛起效和排泄较洋地黄毒苷的快，3～6 h达到作用高峰；4～7天内主要以原形从体内排出；药物在红血球和血浆蛋白中的分布几乎相等，用全血和血浆测得的浓度相差不大；但有文献报道尸血中地高辛的浓度因血的来源而异，心血浓度高于静脉血浓度，死后血浓度较死前血升高。由于地高辛的治疗量已接近中毒量的60%，地高辛中毒和致死血浓度的范围很难确定。一般认为血清浓度在1.0～1.5 ng/mL范围达到最大药效且中毒可能性较小，2～3 ng/mL为治疗和中毒血浓度的交叉范围，浓度大于3 ng/mL可视为中毒，报道的尸血浓度范围

很宽，大致在 3～200 ng/mL。检测血中强心苷浓度或依据血中浓度判断死亡原因时，应注意所用血的来源和种类对测定结果的影响。强心苷中毒死亡者，通常肾、心肌、肝的浓度比较高，骨骼肌中的分布量也比较大，取材时应注意同时收集。

2. 结构性质和检验　强心苷是由强心苷元(cardiac aglycone)与糖缩合而成的苷类化合物，结构比较复杂。苷元结构均含有环戊烷骈多氢菲核，属于甾体衍生物，在碳 3 和碳 14 位上有羟基，在碳 17 位上有一个五元或六元不饱和内酯环的侧链。根据碳 17 位上侧链不同，可分为心甾烯内酯型(又称甲型)和蟾甾双烯内酯型(又称乙型)两类(母体结构如图 9－7)。药用的天然强心苷成分多属于心甾烯内酯型。

各种强心苷化合物结构上的区别，主要在于苷元取代羟基的数目、位置以及配糖种类的不同，现将临床常用的几种强心苷名称、取代基及配糖列于表 9－4 中。

心甾烯内酯型　　蟾甾双烯内酯

图 9－7　两类强心苷元母体结构

表 9－4　主要几种强心苷的取代基及结合的糖质

化合物	苷元上相关 C 位取代基				与 C_3 位羟基结合的糖	相对分子质量
	5	10	12	14		
洋地黄毒苷	H	CH_3	H	OH	(洋地黄毒糖)$_3$	764.95
地高辛	H	CH_3	OH	OH	(洋地黄毒糖)$_3$	780.95
毛花苷丙	H	CH_3	OH	OH	(洋地黄毒糖)$_2$＋乙酰洋地黄毒糖＋葡萄糖	985.1
去乙酰毛花苷丙	H	CH_3	OH	OH	(洋地黄毒糖)$_3$＋葡萄糖	943.09

强心苷化合物纯品一般为结晶，具旋光性，中性。由于强心苷化合物中含有糖分子，虽然分子较大，一般都具有一定的极性，脂溶性也不强，溶解性能比较局限；水溶性大小视糖的多少和苷元上极性基团的多少而异。相对而言，毒毛旋花子苷、铃兰毒苷等化合物的亲水性相对较强，洋地黄毒苷、地高辛、黄夹苷等化合物的亲脂性相对较强；多数强心苷可溶于甲醇和乙醇，但在其他有机溶剂中的溶解度一般都不大；亲脂性较强的几乎不溶于水，但也仅略溶于氯仿，易溶于极性较强的氯仿和甲醇混合液；强心苷在强酸、强碱、酶及高温等条件的作用下可水解成糖和苷元，苷元的极性降低，一般不溶于水，溶于非水溶性的有机溶剂。强心苷的提取率普遍较低，是限制有效检测强心苷的因素之一。

由于强心苷化合物中毒血样浓度很低，且极性较大、难以挥发，能适用于生物样品中

强心苷检测的方法非常有限。放射免疫法是目前临床常用的方法，虽然灵敏、快速，但与强心苷的活性代谢物以及一些内源性的、结构类似的化合物之间有交叉反应，不能作为法医毒物分析的确证方法。目前生物检材中强心苷的检测方法主要有 RIA、HPLC - FLU、HPLC - MS 等。

二、有毒动物

(一) 斑蝥

斑蝥又名斑猫、斑毛、鸡公虫等，为芫菁科昆虫，常生长于豆田、花生田中。作为中草药用的为南方大斑蝥(*Mylabris phalerata Pallas*)或黄黑小斑蝥(*Mylabris cichorii Linnaeus*)的干燥虫体，其中活性成分为斑蝥素(cantharidin)。我国芫菁科昆虫有近 30 种，其他一些品种也有含斑蝥素的，例如，与斑蝥同科不同属的绿芫菁(*Lytta caraganae Pallas*)，又称青娘子，具有与斑蝥类似的药效和毒性，有时被作为斑蝥的代用品。南方大斑蝥和绿芫菁的外观形态如图 9 - 8。

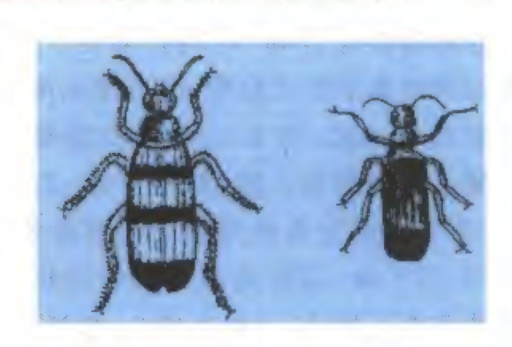


图 9 - 8　斑蝥(左)和绿芫菁(右)

南方大斑蝥体长 1.5～2.5 cm，复眼；黑色革质鞘翅，上有三条黄色或棕黄色的横纹；腹部乌黑，有特殊臭气。黄黑小斑蝥体型较小，长 1～1.5 cm，其他形态与南方大斑蝥相似。绿芫菁体长 1～2 cm，全体亮绿色或蓝紫色，具美丽光泽；半球形复眼；翅两对，前翅为革质的鞘翅，后翅为膜质，翅面具有三条不明显纵纹；体腹面具细绒毛。

中药斑蝥主要用于治疗积年顽癣、瘰症、恶疮死肌、癌肿等。因斑蝥素有破坏组织细胞的作用，近年来，我国合成了一系列斑蝥素的衍生物，如斑蝥酸钠、羟基斑蝥胺、甲基斑蝥胺、去甲基斑蝥素等，用于研究治疗恶性肿瘤。中毒多因轻信谬传而误用斑蝥堕胎或防治狂犬病、刺激性欲等所致；也有因用药过量或误饮过量药酒引起中毒的。

1. 毒性　中药斑蝥和青娘子有大毒，均属于国家规定的剧毒中草药管制品种，内服需先经炮制后慎用，治疗量 30～60 mg，0.6 g 可引起中毒，1.5 g 可致死。斑蝥素对人的致死量大致在 10～60 mg。斑蝥素是很强的发泡剂，皮肤接触后可产生红斑、水疱；若误入眼内，可致红肿、流泪、剧烈灼痛，并引起结膜炎、角膜溃疡等。口服斑蝥或斑蝥素可迅速被吸收，因有发赤、发泡的作用，可使消化道、泌尿系统等受损而引发剧烈疼痛，如口、咽、食管等有烧灼感，口腔黏膜可出现水疱或溃疡，流涎，恶心，呕吐，腹痛等；对肾脏的损害尤为突出，可出现尿频、尿痛，尿中可见血块；死亡多见于一二日内发生。文献报道的斑蝥中毒尸血浓度大多在 0.1～0.3 μg/mL，尿中浓度在 0.2～5 μg/mL。

2. 结构性质及检验　斑蝥素的分子较小，相对分子质量 196，120℃可升华；不溶于冷水，难溶于石油醚，微溶于热水、乙醇、乙醚，溶于丙酮、氯仿。斑蝥素是斑蝥酸的内酸酐，遇碱可开环成盐而溶于水，遇酸立即闭环重新变成斑蝥素(图 9 - 9)。利用斑蝥素升华和水解开环的性质可对样品进行净化。

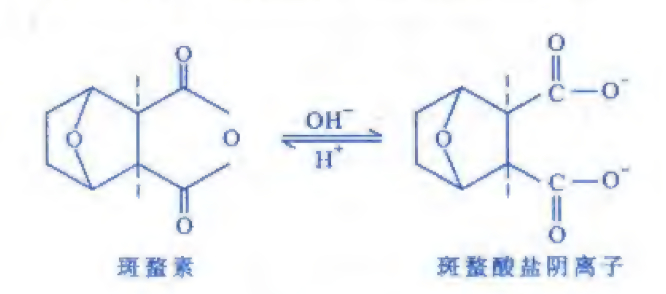


图 9 - 9　斑蝥素水解开环反应

口服斑蝥虫体中毒很快死亡者，常可从

其胃中发现斑蝥的残躯碎翼，可为检验提供方向，检验之前应注意观察。生物检材中斑蝥素的检测主要以 GC、GC－MS 方法为主。

（二）河豚

河豚为鱼豚形目鱼豚科内脏含有河豚毒素（tetrodotoxin，TTX）的一类鱼群。河豚的种类很多，广泛分布于温带、亚热带海域。东方鱼豚如弓斑东方豚、虫纹东方豚、暗色东方豚等在我国沿海均有分布，其中一些种类每年春夏之交进入生殖期，由海中上溯江河产卵，翌年春则群游入海。河豚毒素以卵巢、肝脏、鱼子中含量最高，由于产卵期的鱼肉最为鲜美且毒性最大，故中毒多集中在 3～5 月，且多见于长江下游和太湖流域一带。近年来发现，河豚毒素还存在于卷贝、虾虎鱼、蓝斑章鱼以及海星等众多海洋生物以及一些海洋细菌中。

利用河豚治病在我国古代最早的药典《本草经》（赤鲑）、《本草纲目》（气泡鱼）等书中就有记载。河豚子、河豚目、河豚鱼肝油也皆作药用，有补气、去湿气、理腰脚、去痔疾和杀虫等功效。现代研究中，河豚毒素不仅是生理学、药理学等学科广泛采用的一种重要工具药，而且因其具有高效镇痛、麻醉、镇静、降压、解痉等作用，一直激发着人们对其临床应用研究的浓厚兴趣。但由于毒性较大，使其在临床中的应用受到限制。河豚毒素的性质比较稳定，用盐腌、日晒和一般烧煮方法均不能解毒，中毒多因贪其味美、煮食处理不当所致。

1. 毒性及体内过程　河豚毒素属于小分子非蛋白质类生物毒素，是自然界中发现的毒性最强的神经毒素之一，可高选择性和高亲和性地阻断神经兴奋膜上的钠离子通道，导致神经中枢和神经末梢麻痹。食用河豚鱼中毒，一般在食后 0.5～3 h 内出现中毒症状，潜伏期也有短至 10 min，长至 10 h 的。首先出现胃肠道局部刺激症状，如恶心、呕吐、口渴、腹痛腹泻；继而出现口唇、舌体和四肢知觉迟钝，以指尖尤甚；渐至四肢运动麻痹，呼吸困难，语言不清，瞳孔先缩小后放大，血压及体温下降，心脏房室传导阻滞，最后因呼吸衰竭死亡。河豚毒素的毒性极强，对人的口服致死量大致在 0.5～2 mg，皮下注射 300 μg 即可能导致死亡；食用河豚肝 10 g 可能致死。

河豚毒素的体内过程少见报道，从所报道的案例来看，河豚毒素吸收后，血中浓度下降很快，普通中毒者血中浓度一般在 5 ng/mL 以下；曾报道 5 名在摄入河豚毒素 13 h 内死亡者的尸血浓度为 125～353 ng/mL。河豚毒素主要从尿中排泄，尿中浓度常高于血中浓度。曾有报道，收集 6 名意外中毒者当天血和 24 h 尿样进行分析，结果仅一份血样检出河豚毒素，但尿样全部检出，浓度为 8～120 ng/mL；严重中毒者，甚至在摄入三四天后的尿样仍能检出河豚毒素。怀疑河豚中毒时，除按常规取血样、胃内容物、食物等检材外，应注意及时收集尿样。

2. 结构性质及检验　河豚毒素纯品为白色结晶性粉末，易吸潮。结构比较特殊，为笼形原酸酯类化合物（结构式如图 9－10），通常以两性离子形式存在，既可带阳离子，也可带阴离子，p*K*a 为 8.8；溶解性能很局限，溶于酸水液和酸性乙醇，微溶于水、乙醇、乙醚，不溶于大部分有机溶剂。河豚毒素为饱和结构，220 nm 以后几乎无紫外吸收；强酸或碱性条件下加热，分解生成 2－氨基－6－羟

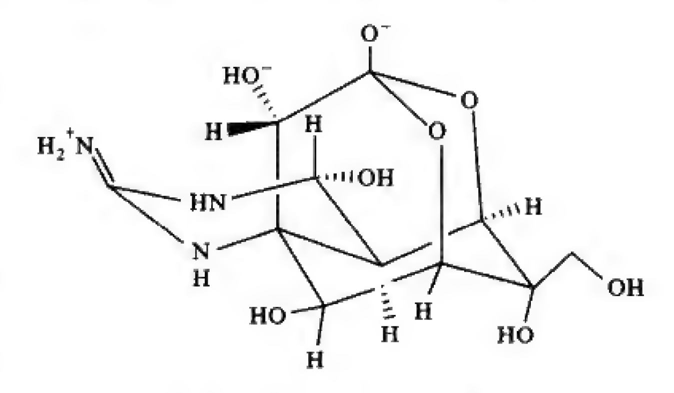


图 9－10　河豚毒素结构式

（$C_{11}H_{17}N_3O_8$，＝319.27）

基-8-羟基-喹唑啉(文献中常称作“C_9-碱基”);分解物的挥发性增加,并能产生荧光,可用荧光法和GC、GC-MS等方法检测。

由于河豚毒素的结构性质特殊,加之中毒量低,生物检材中河豚毒素的提取和检测都比较困难。现用的检验方法有小鼠生物试验法、ELISA免疫法,或用荧光法、GC法或GC-MS法对其水解产物C_9-碱基进行检测,但操作比较麻烦且重现性差。目前中毒检验最有效的方法是HPLC-MS法。

(三) 蟾蜍

蟾酥(Secretion Bufonis)为蟾蜍科动物中华大蟾蜍(*Bufo bufo gargarizans Cantor.*)或黑眶蟾蜍(*Bufo bufo melanostictus Schneider.*)耳后腺及皮肤腺分泌的白色浆液,经收集干燥而成。其化学成分非常复杂,主要活性成分为一类蟾甾双烯内酯型强心苷元的衍生物,统称为蟾毒素(bufotoxins),具有强心作用。蟾酥是我国传统中药,具有解毒、消肿、通窍止痛、强心利尿等功效,是六神丸、金蟾丸、冰蟾酊、蟾麝救心丸、麝香保心丸、强力救心滴丸、大力救心丹、牙痛一粒丸等传统和现代中成药的主要成分。

蟾酥外观性状因地区加工习惯不同各异,有扁圆形团块状、饼状、棋子状或片状等;呈半透明淡黄、黄棕、红棕或黑紫棕色等;质坚硬,不易折断;气微腥,嗅之作嚏;遇水即起泡。

中毒多因过量服用含蟾酥成分的药物制剂,尤以过量服用六神丸中毒多见。此外,也有因误当作青蛙煮食或自用蟾蜍治病导致中毒的,例如,用鲜蟾皮外敷,导致蟾蜍毒液直接接触伤口进入血液引起中毒。

1. 毒性及体内过程 中药蟾酥毒性较大,为国家规定的剧毒中药管制品种。一般药用内服量为15~30 mg,多入丸用,最大用量不超过135 mg。由于蟾酥成分复杂,其毒理作用也比较复杂。口服蟾酥一般在0.5~1 h出现中毒症状,主要表现为类似洋地黄样的心脏毒性,刺激迷走神经或直接损害心肌,引起心动过缓伴心律不齐,心电图检查呈不同程度的传导阻滞,最后可因心脏停搏而导致心源性脑缺血综合征;消化系统以恶心、剧烈呕吐为主,甚至吐出胆汁和血液,有些有腹泻、腹痛;神经系统可见头晕头痛、口唇四肢麻木、嗜睡多汗、烦躁不安等症状。尸解可见心脏呈舒张态,心肌纤维断裂,外膜水肿及溢血斑点;心脑血管扩张充血,并有破裂出血。

蟾毒素口服易吸收(口腔黏膜也能吸收),体内排泄较快,无积蓄,毒性作用的出现与消失都较洋地黄快。

2. 结构性质及检验 蟾毒素为蟾甾双烯内酯型强心苷元C_3位上羟基与辛二酰精氨酸等形成酯。在提取、加工蟾酥的过程中,这些酯类化合物易分解生成蟾毒配基(bufogenin),即强心苷元部分,蟾毒配基种类很多,其中有些已被提取制成临床药物制剂,常用的有蟾酥毒基(蟾毒灵 bufalin)、酯蟾毒配基(来西蟾酥毒基 resibufogenin)、华蟾酥毒基(华蟾毒精 cinobufagin)(图9-11)等。

蟾酥毒基 $C_{24}H_{34}O_4$=386.25

酯蟾毒配基 $C_{24}H_{32}O_4$=384.23

华蟾酥毒基 $C_{26}H_{34}O_6$=442.24

图9-11 三种蟾毒素结构式

蟾毒配基为中性甾体衍生物，一般不溶于水，微溶于乙醚、乙酸乙酯，易溶于氯仿、丙酮、50%乙醇等溶剂，极易溶于甲醇和吡啶。蟾酥中毒时可对水解生成的蟾毒配基进行检测。目前检测方法主要有免疫法、GC、GC-MS、HPLC、HPLC-MS等。

第二节 检验方法

一、检材及检材处理

（一）取材

怀疑天然药毒物中毒时，除按常规采取胃内容物、呕吐物、血、尿、肝等检材以及现场一切可疑物或相关物品外，针对天然药毒物的特点，还应特别注意收集以下检材或物品：①尚未煎熬的中草药、熬过或泡酒的药渣、可疑动植物残肢碎片等具有形态特征的物品；②医生所开的处方或患者自寻的偏方；③与案情相关的中草药或动植物对照品；④对一些毒性大且血中浓度下降快的毒物，还应注意收集一些特殊的生物检材，如秋水仙碱应注意收集胆汁以备必要时使用。

（二）检材处理

天然药毒物的检材种类较多、性状各异，选择检材处理方式首先要视检材的性质以及后续检验方法的原理和效用而定。通常预试验与鉴别确证试验中检材的处理原则不同。

1. 预试验中的检材处理　在预试验中，一般检材无需特别处理或只经过简单的处理。例如，剩余饮食物或中草药液可直接给小动物灌食，迅速判断其中是否含有剧毒的天然药毒物；体外检材中保留有动植物形态特征的可疑植物碎片或中草药残渣以及动物的残肢碎翼，可分拣出来用形态学方法鉴定；现场收集的药片、胶囊、注射液、输液、注射器等成分比较简单的检材，可直接取用或用乙醇等溶剂溶解过滤后，用于紫外光谱测定或进行一些简单的化学类别反应试验；对一些毒性很大、安全范围小的天然药毒物制剂，如强心苷、蛇毒、河豚毒素等，有些临床有用于监测的特殊免疫试剂，可直接用于血或尿样筛查。

2. 鉴别确证试验中的检材处理　在分析目的物比较明确的情况下，通常需对检材进行一定处理，除去蛋白质以及其他可干扰检测的杂质成分，将具体的毒物成分从检材中提取分离出来，并进行检测。检材处理方式主要依据毒物的结构性质以及检材的性状而定。天然药毒物的毒性成分主要为有机化合物，除毒芹碱、烟碱等少数易挥发外，绝大多数都属于非挥发性有机化合物，可按一般非挥发性有机毒物的方式提取分离毒物，最常用的就是有机溶剂萃取法和固相萃取法。

（1）有机溶剂萃取法　用有机溶剂浸取或萃取检材中的天然药毒物成分时，关键是针对毒物的溶解性能和酸碱性不同，选择合适的提取溶剂和调节检材的pH。

1）生物碱的提取　生物碱是天然药毒物中最常见的活性成分，绝大多数都具有一定的碱性，碱性大小取决于氮原子在分子结构中的状态，含季铵的碱性最强，如小檗碱；少数N呈酰胺结构的，如咖啡因、秋水仙碱等，则碱性很弱。大部分生物碱都能与酸成盐，遇较强的碱时又游离出来。一般而言，游离态的生物碱易溶于有机溶剂，成盐后则水中溶解度增加，而有机溶剂中的溶解度相对降低，如表9-5中列出的士的宁和阿托品及其盐的溶解度。因此，生物检材中生物碱类的提取，通常是先将检材调成碱性，使生物碱呈游离形式，然后用乙醚、氯仿等有机溶剂提取，将生物碱从检材中分离出来，并与蛋白质及水溶性杂质等分离；必要时可用酸水溶液对有机提取液进行反萃取净化，除去酸性和中性脂溶性杂质；或将有机提取液直接过吸附柱净化。对于植物或中草药类检材，通常先用稀酸液浸泡提取，滤液经碱化后再用有机溶剂萃取。

表 9-5 部分天然药毒物成分在常用溶剂中的溶解度(g/mL,25℃)

化合物	水	乙醇	乙醚	氯仿
乌头碱	1∶4 500	1∶28	1∶70	1∶3
士的宁	1∶6 400	1∶150	1∶5 500	1∶6
硫酸士的宁	1∶31	1∶65	不溶	1∶325
阿托品	1∶455	1∶2	1∶25	1∶1
硫酸阿托品	1∶0.4	1∶5	1∶3 000	1∶420
秋水仙碱	1∶20	易溶	1∶160	易溶
钩吻碱	微溶	易溶	易溶	易溶
斑蝥素	微溶于水,溶于碱水	1∶1 100	1∶700	1∶55
马兜铃酸	溶于 NaOH 溶液	可溶	可溶	可溶
洋地黄毒苷	难溶	1∶50	微溶	1∶40
地高辛	难溶	易溶 80%醇	难溶	难溶

在提取过程中,为了减免毒物的损失应注意以下问题:①有机提取溶剂应选择对游离生物碱溶解度大而对杂质溶解度小的,常用溶剂有乙醚、氯仿、苯等;②检材 pH 应依据生物碱的 pK_a 调节,pK_a 值越大,碱性越强,检材的 pH 一般应高于 pK_a 值;但对于含酯或酰胺结构的生物碱,如莨菪生物碱、双酯型乌头生物碱等,应尽量避免使用强碱调节 pH 和在碱性水溶液中久置或加热,以减少水解。③生物碱成盐后的溶解性能与离子的亲水性或水合力有关,水合力弱的离子所构成的盐有形成离子对的趋向,水中溶解度降低,有些盐在氯仿中的溶解度仍然较大,但在乙醚中的溶解度较小,如士的宁的盐,因此,应尽量避免从氯仿提取液中用酸水液反提生物碱。必要时,可将氯仿挥干后用酸水液溶解。④由于分子结构的亲水性不同,也有一些游离生物碱在水中有较大的溶解度,例如,游离秋水仙碱在水中的溶解度比在乙醚、氯仿中的还大,提取时应注意适当增加提取溶剂体积和提取次数。⑤生物碱类多具有一定的极性,用吸附剂净化时,应避免使用吸附力过强的活性炭。

2）酸性成分的提取　马兜铃酸、斑蝥素等毒性成分为酸性化合物,遇碱可成盐,酸化后游离。与生物碱相似,一般来讲,游离态时有机溶剂中的溶解度较大,成盐则水中溶解度增加,有机溶剂中的溶解度降低。因此,提取时通常是先将检材调成酸性,使药毒物成游离态,然后用乙醚、氯仿等有机溶剂萃取;必要时可用碱水溶液反萃取净化,以除去碱性和中性脂溶性杂质。对于植物或中草药类检材,通常先用稀碱液浸泡提取,滤液酸化后再用有机溶剂萃取;或直接用含 2%甲酸的甲醇或丙酮提取,滤液挥干后,用稀碱液溶解,用乙醚萃取除去碱性和中性有机杂质后,然后再将碱水液酸化,用有机溶剂萃取。

3）强心苷的提取　强心苷为中性化合物,提取主要依据其极性大小,选用合适极性的溶剂提取。相对亲脂性较强的强心苷如洋地黄毒苷、地高辛等或亲脂性的强心苷元如蟾毒配基,可直接用氯仿、氯仿-乙醇(2∶1)、氯仿-异丙醇(95∶1)、二氯甲烷、乙酸乙酯等溶剂提取;亲水性的强心苷,通常直接用甲醇或乙醇提取,一般提取液杂质较多,可用乙醚萃取除去部分色素、油脂等酯溶性杂质。由于大部分苷类化合物的极性都较强,有机溶剂的提取回收率普遍偏低。对极性特别大的强心苷,可考虑通过下述方法提高其有机溶剂的提取率:①将苷类化合物水解,生成的苷

元一般脂溶性较大，再用有机溶剂提取；②将生物检材置干冰-丙酮浴或液氮中冷冻，然后放入冷冻干燥器中减压干燥，除去水分后再用有机溶剂提取。

4）其他毒性成分的提取　天然药毒物中有一些结构性质比较特殊的，如河豚毒素，具有两性，在酸性和碱性条件下均可解离；极性较强，绝大多数溶剂中都难溶，仅溶于酸性水液和醇液中，不适合用非极性的有机溶剂提取。通常用酸性甲醇作为提取溶剂，在提取的同时，沉淀除去蛋白质；上清提取液挥干后，残渣用稀醋酸溶解，并用氯仿、乙醚等有机溶剂萃取洗去脂溶性杂质，水液用于分析。

含蛋白质较多的检材，用有机溶剂提取时，可先沉淀除去蛋白质。但需注意有些蛋白质沉淀试剂，如三氯醋酸，也可能使一些生物碱沉淀，不宜盲目使用。

（2）固相萃取法　目前该法在血、尿等液体生物检材的处理中应用越来越广泛。传统以键合硅胶为填料的反相萃取柱，如 Sep-Pak 系列，主要适合于将非极性的毒物与极性的内源性生物杂质分离，但有时对一些极性较大或酸碱性较强的毒物萃取效果欠佳。近年来，出现了将传统反相键合硅胶与离子交换剂结合形成杂化基质填料的固相萃取柱，如 Oasis 系列，此类萃取柱可同时利用反相色谱和离子交换两种机制吸附样品，尤其是对天然药毒物中一些极性较强或具有酸碱性的成分可以起到比较好的萃取和净化作用。例如，Oasis MCX 柱是阳离子交换剂和反相键合硅胶混合的固相萃取柱，适合碱性毒物的萃取；含有生物碱毒物的血样经酸化后过柱，生物碱吸附于小柱上；用稀盐酸和甲醇分别洗去酸性杂质和中性杂质；最后再用碱性醇将生物碱从柱上洗脱下来。

由于天然药毒物的毒性大小各异，中毒检材的浓度也相差较大。因此，在处理检材之前，首先应了解天然药毒物的毒性大小、中毒检材中毒物的大致浓度以及检测方法的灵敏度等。对一些中毒浓度非常低的检材，应考虑适当增加取样量或提取液的浓缩倍数。

二、预试验和筛查试验

天然药毒物具有来源成分复杂、结构性质差异大、检材浓度低、标准对照品缺乏等特点，在没有明确分析方向和合适分析条件的情况下，即便是通过 GC、HPLC、GC-MS 等仪器分析方法也可能造成漏检。因此，在分析目的物不明确的情况下，一般可现通过体外检材进行一些预试验或筛查试验，以寻找检验方向。常用方法有动物试验、形态学鉴定、免疫方法、紫外光谱、化学反应等。

（一）动物试验

针对一些天然药毒物毒性大、中毒死亡快、有明显中毒症状的特点，在体外检材条件许可的情况下，可先利用简便、易行的动物试验进行预试或筛查，方法包括急性毒性试验和毒效试验。在无检验方向或需在较短时间内判断检材中是否含有剧毒物质时，可做急性动物试验。例如，取剩余饮食物、中药液、药酒等直接喂饲或灌饲小动物，观察动物是否在短时间内死亡以及所出现的中毒症状，迅速判断检材中是否含有剧毒成分，并根据中毒症状推测可能含有的毒物种类（案例 9-3）。

案例 9-3：两名游客到沿海某城市旅游，傍晚，两人相继出现口唇、舌尖和肢端感觉麻木症状，随后去医院就诊。其中一人呕吐两次，病情迅速恶化，出现呼吸肌麻痹，并于第三天中午死亡。中毒症状以神经症状为主，据了解，两人中午在一家酒楼用餐，酒楼食物中仅芥蓝菜有可能导致神经中毒症状，但调查结果为共食此菜的有近 100 人，均未发生类似中毒情况，因此排除午餐中毒的可能性。进一步了解发现两人下午曾在一家干果店购买过烤鱼片吃，初步认为烤鱼片为可疑中毒食品，

故将死者吃剩的烤鱼片进行动物试验。结果小白鼠在摄入烤鱼片后1～2 min即出现躁动不安、呼吸急促、全身痉挛，进而呼吸困难，4 min后呼吸停止。将小白鼠解剖可见心脏仍在搏动，维持30～40 min。从小鼠死亡的时间和症状推测系河豚毒素中毒。后查明死者所购烤鱼片系用有毒的河豚鱼（青归鱼）制成。

根据案情，当怀疑可能含有某种或某类药毒物时，也可针对毒物所具有的特殊药（毒）理作用，有目的地选用容易观察毒效的敏感动物进行试验，使中毒症状更加明确。常用的有士的宁的青蛙毒性试验、阿托品的猫眼扩瞳试验、斑蝥素的发泡试验等。

1. 士的宁的青蛙毒性试验　士的宁具有强脊髓兴奋作用，大剂量可导致全身骨骼肌收缩，引起全身强直性痉挛。方法为：检材提取物用少量1∶100的稀盐酸溶解，取0.5 mL注入青蛙背部淋巴囊中。如果含有士的宁，则在给药后数分钟至半小时，青蛙可出现间歇性、强直性四肢肌肉痉挛；蛙体及后肢僵直，前肢环抱，形态如图9－12左，可持续半分钟到一分钟，间歇数分钟再次出现痉挛；间歇期间，外界稍有声音或光线刺激，可立即引起再次全身强直性痉挛。青蛙中毒量为0.25 mg，剂量过大，也可能来不及显现痉挛症状即迅速死亡。烟碱也可导致青蛙出现特殊的痉挛，但症状与士的宁的不同，可见青蛙后肢小腿屈曲如坐状，大剂量时四肢同时向腹部前僵直伸出，如图9－12右。



图9－12　士的宁（左）和烟碱（右）青蛙痉挛形态

2. 莨菪生物碱的猫眼扩瞳试验　莨菪生物碱均具有扩瞳作用，其中以阿托品和东莨菪碱的作用较强，常利用猫眼进行动物试验。方法为：用生理盐水将检材提取物配制成中性等渗溶液，取一滴滴入猫的一只眼中，同时以另一只眼作空白对照，观察其瞳孔变化。如果有莨菪生物碱存在，约30 min后，被试猫眼瞳孔散大。阿托品浓度为1∶130 000时，即可产生明显的散瞳效果。古柯碱也有较弱的扩瞳作用。

动物试验只能作为预试验，其结果需用仪器方法进一步鉴别和确证。

（二）形态学检验

1. 方法原理　针对天然药毒物体大都具有一定形态特征的特点，了解原动植物或常用有毒中草药的形态特征，以及将体外检材中残留的植物碎片、动物残肢碎翼、药渣等分拣出来进行形态学鉴定，对于寻找检验方向具有一定的意义。形态学检验方法包括外观性状鉴别和显微形态鉴别。

外观性状鉴别即通过感官对检材的外观性状进行鉴定。包括对检材的形状、大小、色泽、表面特征、质地、折断现象、断面特征以及气、味等，通过看、摸、嗅、尝等方式进行观察和鉴别。

显微形态鉴别是利用显微镜观察动植物类药毒物的组织构造、细胞以及后含物的种类等显微形态特征，通过与已知对照品的形态特征进行核对鉴定。细胞后含物是细胞中的非生命物质，是新陈代谢形成的积累物，其成分和形态往往具有特征性的信息，是观察的重点。后含物中有可见形状的，如淀粉粒、菊糖、糊粉粒、油珠、草酸钙、碳酸钙等，也有处于溶解状态的无形物，如生

物碱、苷、鞣质等。

进行显微形态鉴别，需先对检材进行处理，制成能供镜下观察的显微片子。通常将检材制成细微颗粒（粉末制片）或薄片（组织切片）。粉末制片主要用于观察被分散的组织细胞，以便找寻一些具有特征性的细胞及其后含物。中草药粉剂、粉末状天然毒品、中成药丸剂等检材，可直接取用；组织切片主要用于观察某一局部较为完整的组织结构。显微观察前需将粉末或组织切片置于载玻片上，用适当的溶剂或试剂处理后加盖玻片封藏，称为封片或装片。根据观察目的和要求不同，可用不同的试剂和方法进行封片，常用封片试剂及观察目的见表 9-6。

表 9-6 常用封片试剂及观察目的

常用试剂	观察目的
水或稀甘油	适合观察细胞形态的全貌，如细胞壁的颜色、淀粉粒、油滴、树脂等
水合氯醛	可使淀粉粒、蛋白质、叶绿体、树脂、挥发油等溶解，同时使已收缩的细胞膨胀，起到净化和透化的作用，便于观察某些形态特征，如叶片、花、花粉粒等细胞形态以及草酸钙等结晶的形态
间苯三酚试剂	可使木质化的石细胞、纤维、导管等细胞壁显红色，便于观察
氯化锌碘试剂	可使纤维素细胞壁显蓝色或紫色，便于观察
碘试剂	可使淀粉粒显蓝色，便于观察
硝酸汞试剂	可使糊粉粒显砖红色，便于观察
苏丹Ⅲ试剂	可使油滴显橘红色，便于观察
1∶1 硫酸	可使各种不同形态的草酸钙结晶转变成硫酸钙针晶，可鉴别草酸钙晶体
醋酸	可使钟乳体（成分主要为碳酸钙）逐渐溶解，同时产生二氧化碳气体。若改用盐酸，则可同时使碳酸钙和草酸钙结晶溶解消失。可鉴别碳酸钙晶体和草酸钙晶体

2. 天然药毒物的形态学鉴定　动植物以及中草药的形态学鉴定是一门学问，比较复杂。法医应了解一些常见有毒动植物和有毒中草药的外观形态特征和初步的形态学鉴定方法，以便寻找毒物检验的方向（案例 9-4）。如果需要进一步的复杂鉴定，可求助于生物学家、中草药专家及有经验的中药师等。此处仅选几例帮助理解天然药毒物来源的复杂性以及了解形态学鉴定的基本方法。

案例 9-4：某男，为治风湿病，从一无证游医处购买中草药一包，回家后用白酒 500 g（一斤）浸泡。一日晚上，与其姐一起饮药酒约 50 g，数分钟后即感舌麻，随后出现头晕、呕吐、四肢发麻、大小便失禁、意识丧失，于次日凌晨 4 时死亡，其姐经抢救脱险。当地卫生局取喝剩药酒送检。因药酒成分非常复杂，考虑如果通过理化方法从药液寻找检验方向比较困难，故先从具有形态特征的药渣入手，则很快找到检验方向。将药酒中的药渣分离出来，烘干后，根据形态特征进行分类鉴定，结果从中分出中草药十二味，其中剧毒中草药就有川乌、草乌、马钱子和藜芦四味，且均为“生品”，其中乌头用量已超过最低用量近 20 倍。

（1）乌头属药材的外观形态和性状　乌头属植物的药用部分为根，不同品种根的形态有差别，但大体而论也有一些相似之处。

乌头根的形态和大小与具体的品种有关。一般说来，乌头块根长为 1.5～15 cm，直径 0.5～3 cm；表面黄棕色、棕褐色或灰褐

色，多数有皱纹及支根和须根痕；质坚硬，不易折断；横断面呈灰白色或浅灰黄色，粉质，有时可见多角形或近圆形的环状纹（形成层）；气微，味辛辣而麻舌。干燥根的外观形态大致可分为两类：一类呈纺锤形或圆锥形，中部多向一侧膨大，有的稍弯曲，许多称为草乌或乌头的多属此类，如图 9－13 中的乌头和北乌头；另一类呈长圆锥形或长圆柱形，直径较小，质坚较脆，如称为雪上一枝蒿的短柄乌头。也有个别品种的根是由数个根呈链状连生的，如多根乌头。经过炮制后的乌头一般切成片状，称“附片”，因所用的调色液不同，有黑色、白色、黄色等，无麻舌感，毒性较生品乌头小得多。



图 9－13　三种乌头属中草药的外观形态
左：乌头；中：北乌头；右：短柄乌头

（2）马钱子的形态和鉴定　常用中药有马钱子和云南马钱子，两者形态有所不同（图 9－14）。前者为扁圆纽扣状，直径 1～3 cm，厚 3～6 mm；表面呈灰绿色或灰黄色，密生匍匐银色丝状茸毛，从中央向四周散射；一面微凹，另一面稍隆起，中央有一稍突起的点状种脐，边缘有微尖突的珠孔，种脐与珠孔间隐约可见一条隆起线；质坚硬；剖面有淡黄色胚乳，后者为扁椭圆形或扁圆形，边缘较中部稍薄而上翘；表面密被灰黄色或浅棕色的绢状茸毛，较疏松粗糙。

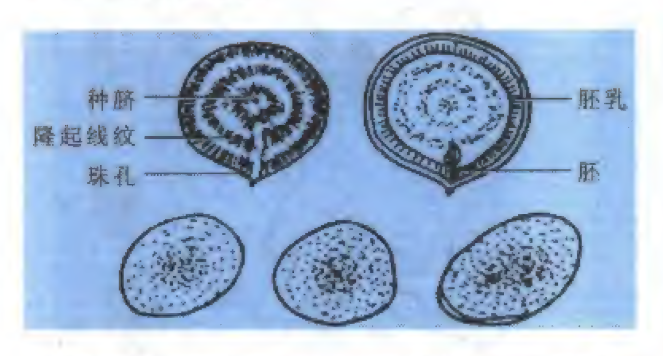


图 9－14　马钱子（上）和云南马钱子（下）形态

另有一种称为木鳖子的中药为葫芦科植物木鳖的干燥成熟种子，扁平圆板状，表面颜色较深，有网状花纹，主要含多种三萜皂甙，大小厚薄与马钱子相类似，应注意区别。

若中药渣或胃内容物中有疑为马钱子的种子或碎渣，可用水泡软后作横断面切片或直接刮取种子被毛，置显微镜下观察，种子表面细胞形态如图 9－15，细胞分化向一侧斜伸，单细胞毛，基部膨大，似石细胞，壁极厚，强烈木化，有纵向扭曲的纹孔，毛体有数条脊状增厚，胞腔断面类圆形。马钱子与云南马钱子的主要区别为前者表皮细胞毛茸平直不扭曲，毛肋不分散；后者平直或多扭曲，毛肋常分散。中成药丸用水化开，取液底残渣显微镜下观察，粉末可直接封片，但表皮单细胞多碎断。如果用间苯三酚-盐酸试剂封片，可使木化的表皮细胞壁染成红色，更易于观察。

马钱子中含有马钱子生物碱，也可直接如将种子以横断面剖开分成两半，滴加钒硫酸试剂一滴于胚乳上，可显紫色；改滴硝酸，则显橙红色。

（3）含莨菪生物碱的中药材　含莨菪生物碱的中药材主要来源于茄科曼陀罗属和莨菪属植物的花、种子和根，常用的有洋金花、天仙子、三分三等，由于所属植物部位不同，形态各异。

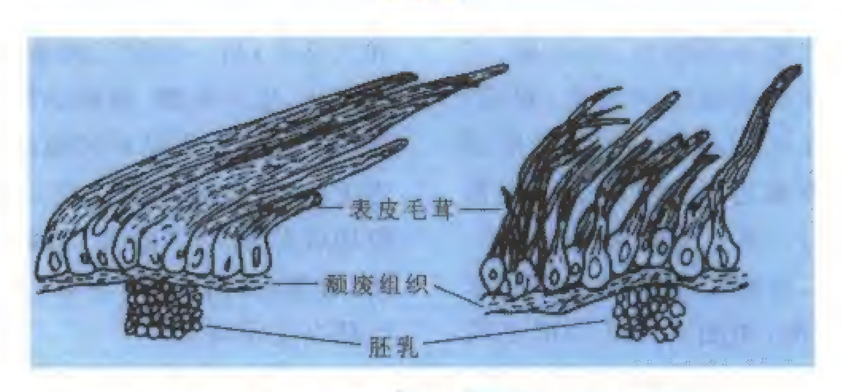


图 9-15 马钱子与云南马钱子表皮毛茸图

左：马钱子；右：云南马钱子

① 洋金花的形态特征 洋金花的原植物为茄科的白曼陀罗（南洋金花）或毛曼陀罗（北洋金花），两者原植物形态不同。白曼佗罗高 0.5～1.5 m，全体近无毛，花白色，蒴果近球形或扁球形，表面疏生短刺（图 9-16）；毛曼陀罗高 1～2 m，全体密被白色细腺毛或短柔毛，花白色或淡紫色，花冠下半部带绿色，蒴果俯垂，表面密生近于等长的针刺和灰白色柔毛。

药材洋金花干品多皱缩成条状（图 9-17），完整者花萼筒状，长 9～15 cm，灰绿色或灰黄色。观察外观形态和色泽后可用水湿润，软化后观察花萼、花冠、花蕊等的形状，花冠喇叭状，北洋金花的花冠裂片间有三角形突起，花表面有短柔毛。

洋金花的粉末为淡黄色，透化封片，镜下可见（图 9-18）：类球形或长圆形花粉粒，表面有条纹状雕纹，自两极向四周呈放射状排列；非腺毛，壁具疣状突起；腺毛；草酸钙砂晶、方晶和簇晶；导管以及花粉囊内壁细胞和花冠表皮细胞等。草酸钙晶体不溶于醋酸，加硫酸变成针晶，可以此与其他晶体鉴别。

有的地区将闹羊花称为洋金花，闹羊花是杜鹃科植物羊踯躅（*Rhodoendron molle* G. Don）的干燥花，其形态、药效和毒性均与洋金花不同，应注意区别。



图 9-16 洋金花原植物及蒴果形态

1. 白曼陀罗植物；2. 白曼佗罗果；3. 毛曼佗罗果



图 9-17 洋金花



图 9-18 洋金花粉末显微形态

1. 花粉粒；2. 非腺毛；3. 腺毛；4. 导管；5. 花粉囊内壁细胞；6. 草酸钙结晶；7. 花冠表皮

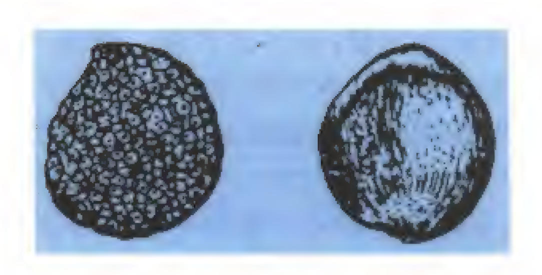


图 9-19　天仙子(左)和南天仙子形态(右)

② 天仙子与南天仙子的鉴别　药典收载的天仙子为茄科植物莨菪的干燥成熟种子,呈肾形或卵圆形,两面扁平,直径约 1 mm;表面棕黄或淡灰棕色,有细密的网纹及排列不整齐的麻点;脐点处突出。在我国南方一些地区,将爵床科植物水蓑衣的种子称作南天仙子。南天仙子与天仙子的大小相似而药效和毒性均不同,两者从外观形态上可以区别(图 9-19)。

(4) 马兜铃中草药的形态　中药中的马兜铃、青木香和天仙藤,分别为马兜铃科植物马兜铃或北马兜铃果实、根和茎叶的干燥品。三者在外观形态和性状上完全不同(图 9-20),但均含有马兜铃酸,长期或大量使用可导致肾脏毒性。



图 9-20　马兜铃植物及其药材形态
左:马兜铃药材;中:马兜铃植物;右:青木香药材

(5) 木通药材的形态　市场流通的木通药材有关木通、白木通、川木通和淮通,其中关木通和淮通源于马兜铃科,含有马兜铃酸;而白木通和川木通则分别属于木通科和毛茛科,不含马兜铃酸。这些木通药材源于不同的科属,植物形态差异很大(图 9-21),不难区别。关木通药材呈圆柱形(图 9-22),川木通和白木通外观性状与关木通相似,不易区别,可通过对马兜铃酸的检验进行确证。



图 9-21　三种木通药材原植物
左:关木通;中:白木通;右:川木通
1. 花;2. 果;3. 茎叶

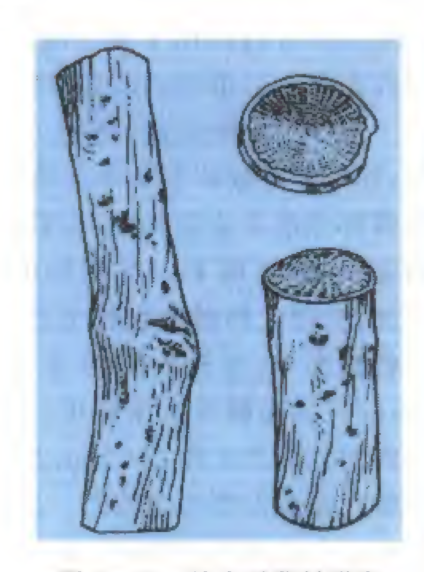


图 9-22　关木通药材形态

（6）丽江山慈菇与川贝母的区别　丽江山慈菇含有秋水仙碱，因外观与川贝母相似，有被误用作川贝母而导致中毒的，需注意区别。丽江山慈菇有外皮为褐色，呈不规则短圆锥形，高1～1.5 cm，直径0.7～2 cm，顶端渐尖，基部呈脐状凹入或平截，表面黄白或灰黄棕色，光滑，一侧有自基部伸至顶端的纵沟；质坚硬，难折断，断面角质样或略带粉质，类白色或黄白色。川贝母外观与山慈菇相似，主要区别是鳞茎无外皮。

此外，被称作山慈菇的中草药商品名称较乱，除丽江慈菇外，还有下面一些不同的科属的植物被称作山慈姑：①百合科植物老鸦瓣的鳞茎，也称"光慈菇"，主要成分为山慈菇心脏毒素（tulipin），其次为秋水仙碱。②兰科植物杜鹃兰（也称毛慈菇）和独蒜兰（习称冰球子）的假鳞茎。③防己科植物金果榄、青牛胆的块根等，应注意加以区别。

（三）紫外吸收光谱

有不少剧毒天然药毒物的毒性成分是临床常用的药物，如硝酸士的宁、硫酸阿托品、氢溴酸东莨菪碱、蟾毒灵、秋水仙碱等，现场常可能收集到一些药片、胶囊、注射液等药物制剂或安瓿、注射器、输液等可能含有这些药毒物的材料。这些材料中的成分一般比较简单，含量较高，且大多具有紫外吸收，经过简单处理即可直接用于紫外吸收光谱测定，从吸收光谱中可得到一些药毒物的信息。

对一类毒物来讲，结构上大都有共同之处，如果紫外吸收主要来自结构的共同部分，则紫外光谱常比较相似，不能用于一类毒物的鉴别，但可用于一类毒物的筛查或预试。例如，莨菪生物碱的吸收主要来自结构中的莨菪酸部分，呈现"山"字形苯环B带弱吸收，阿托品在酸性水溶液中的最大吸收波长分别为252、258和264 nm，其他莨菪生物碱的吸收光谱也都与之相似。也有一些毒物的母体结构并无明显吸收，其吸收主要来于取代基，其他含相同取代基的化合物也可能有相似的吸收光谱，需注意区别。例如，双酯型乌头生物碱的紫外吸收主要来自分子中的苯甲酰基或大茴香酰基，吸收光谱相似，在230 nm左右和270～300 nm处有吸收峰，但酯键水解后的产物乌头胺醇则是饱和化合物，无明显的紫外吸收。有些毒物虽然母体结构相同，但因取代基对吸收的影响较大，也可能导致吸收光谱有较大的差异。也有结构完全不同的化合物，可能具有相似的吸收光谱。

有许多因素可影响毒物的吸收光谱。样品的pH改变是影响光谱的常见因素，尤其是对一些具有酸碱性的毒物，在不同的酸碱性条件下所处的化合状态不同，pH的影响尤为突出。例如，钩吻素甲在酸性条件下最大吸收波长为252 nm，碱性条件下则长移至268 nm，吸收曲线如图9－23。药物制剂中的药毒物有些是游离状态的，也有些是成盐状态，测定光谱时应保证样品和对照品所处的状态一致。此外，还应注意，当样品不纯含有其他可吸收紫外光的杂质时，也可使毒物的吸收光谱发生改变。由于紫外光谱的信息较少，且影响因素较多，故紫外吸收光谱一般只能作为预试或筛查，其结果需用其他方法进一步鉴别和确证。

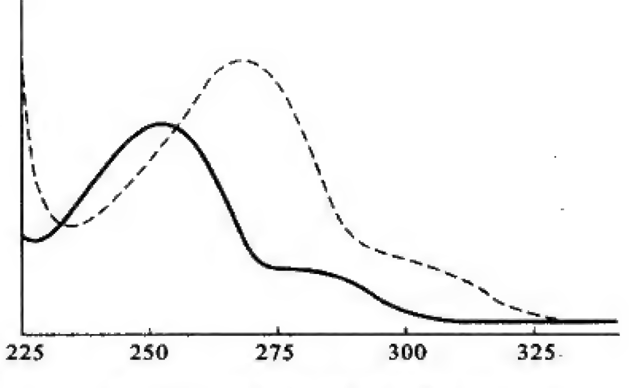


图9－23　钩吻碱甲的紫外吸收光谱
—酸水液中　---碱水液中

部分天然药毒物成分的最大紫外吸收波长列于表9－7，可供预试筛查或高效液相色谱法选择检测波长参考。

表 9-7 常见天然药毒物成分的最大紫外吸收波长

化合物	最大吸收波长 λ_{max}/(nm)		
	乙醇中	酸水液中	碱水液中
乌头碱	228,270	234,275	
士的宁	255,280(h),290(b)	254	255,278
马钱子碱	267,301	265,300	265,302
阿托品	252,258,263	252,258,263	
东莨菪碱		251,257.5,263.5	
钩吻碱甲		252	268
秋水仙碱	243,350		
马兜铃酸 A	223、251,318,388		
斑蝥素	223,260		
心甾烯内酯型强心苷	220 左右有强吸收		
蟾甾双烯内酯型强心苷	295～300 有强吸收		

(四) 化学反应

成分相对简单、含量较高的体外检材，直接取样或经过简单的提取处理，根据各类药毒物的结构性质，可选用一些简单的化学反应进行预试和快速筛查。

1. 生物碱沉淀反应　在酸性水溶液中，一些试剂能与生物碱形成难溶性的沉淀，这些试剂称为生物碱沉降试剂，常用的有 Dragendorff(碘-碘化铋钾)试剂、Wagner(碘-碘化钾)试剂、Mayer(碘-碘化汞钾)试剂、Sonnenschein(磷钼酸溶液)试剂、Scheibler(磷钨酸溶液)试剂、Hager(苦味酸溶液)试剂、氯化铂试剂及氯化金溶液等。

沉降试剂中，没有一种能使所有生物碱都产生沉淀；也很少有一种生物碱能与各种沉降试剂都产生阳性反应；而且沉淀反应的灵敏度也各不相同，大致在微克级左右。预试或筛选生物碱类毒物时，一般同时选用几种覆盖面较宽和灵敏度较高的试剂作为常用试剂。只要有一种试剂能产生沉淀，就有生物碱类存在的可能；如果所用几种试剂有足够的覆盖面和灵敏度，而又都不产生沉淀时，通常就认为检液中不含有生物碱。由于许多其他含氮有机物，如蛋白质的降解产物、一些碱性合成药物等，都可能与试剂产生沉淀，所以阳性结果不能作为肯定生物碱存在的依据，需用其他方法进行确证。

有些生物碱可与某些沉降试剂产生比较特殊的结晶沉淀，具有一定的专属性，也可作为鉴别的依据。例如，阿托品与碘-碘化钾反应可生成飞鸟状的细小深棕色结晶(图 9-24)；士的宁与亚铁氰化钾晶体反应，可生成浅黄色翅状结晶。但结晶反应要求样品比较纯，一般适合成分比较简单的药物制剂。



图 9-24　阿托品碘-碘化钾结晶

2. 生物碱显色反应　生物碱显色反应与沉淀反应都是沿用很久的试验方法，在毒物检验工作中的作用与意义相似，但又不能

相互代替，应相辅而行，以提供更多的辩证依据。显色试剂多为浓强酸或以浓硫酸为溶剂加入少量试药配制而成，常用的有 Marguis 试剂（含约 1% 甲醛）、Mandelin 试剂（含 0.5% 钒酸铵）、Frõede 试剂（含 1% 钼酸铵）等。

显色反应灵敏度大约为 0.05～0.5 μg，操作简便。操作可在瓷蒸发皿中进行，一般将提取液蒸干后滴加显色试剂，观察颜色变化。有些生物碱显色反应具有较强的特异性，可与其他生物碱鉴别。反应的显色快慢、色泽保持时间以及色调变化历程等可因样品纯度、操作以及不同人的表述而有差异，许多合成药物也可与试剂显色，故反应为阳性时，需用其他方法进一步确证。部分生物碱类显色反应列于表 9－8 中，供参考。

表 9－8　部分生物碱显色反应

生物碱	甲醛-硫酸	钒酸铵-硫酸	钼酸铵-硫酸	重铬酸钾-硫酸	硝酸-硫酸	浓硫酸	浓硝酸
乌头碱	无色	淡棕→橙	黄棕→蓝	无色	紫色	无色或微红	无色
士的宁	无色	蓝紫色*→红橙	无色	蓝紫色*→橙黄	无色	无色	淡黄色，加热蒸干，残渣遇氨显紫红
马钱子碱	红橙	红→棕	红→黄	无色	红→黄	冷无色 加热变红	血红色*→紫(加氯化亚锡)
阿托品	橙	红					
秋水仙碱							蓝绿→紫红→淡黄→红(加过量 NaOH)
钩吻碱		红→绿		红→红紫→蓝绿			

3. 强心苷的化学反应　反应主要针对甾体结构、苷元不饱和内酯侧链和糖质，三类反应可联合用于预试是否含有强心苷类化合物，但通常不能鉴别是何种强心苷。

(1) Rosenheim 反应　取检液少许点于滤纸上，喷 25%三氯乙酸乙醇溶液，于 100℃加热数分钟，强心苷可生成黄色或黄绿色斑点，紫外光下可见荧光。其他甾体化合物可干扰反应。

(2) Legal 反应　取检液数滴，加亚硝酰铁氰化钠试剂数滴，如含强心苷，溶液显红色，不久褪去。试剂配法：0.2 g 亚硝酰铁氰化钠溶于 20 mL 5% NaOH 和乙醇(1：1)的溶液中。其他含不饱和内酯结构的化合物可能干扰反应。

(3) Keller-Killiani 反应　强心苷水解可得到α-去氧糖或其衍生物，故可呈显 α-去氧糖的颜色反应。取提取残留物少许，加三氯化铁冰醋酸试剂几滴，振摇使之溶解，再沿壁缓缓加入浓硫酸，如有 α-去氧糖存在，界面处呈棕色环，渐变绿色、蓝色，最终醋酸层全部变成蓝色。

4. 蟾酥的化学反应　主要针对蟾毒配基的六元不饱和内酯甾体结构。

(1) 对二甲氨基苯甲醛反应　甲醇提取液，加对二甲氨基苯甲醛固体少量，使溶解，滴加硫酸，初显紫蓝色，渐变为蓝绿色。

(2) 浓硫酸反应　提取残留物，滴加浓硫酸数滴，蟾酥配基可显橘红—深红色，紫外光下显黄绿色荧光。

(3) 醋酐反应　提取残留物，加数滴氯仿溶解，或直接取氯仿提取液，加醋酐数滴，振摇，再加浓硫酸数滴，初显蓝紫，渐变为蓝绿色。

5. 斑蝥素的化学反应

（1）对二甲氨基苯甲醛反应　提取物少许，加(1∶1)硫酸 2 滴，微热溶解，趁热加对二甲氨基苯甲醛试剂 1 滴，如含斑蝥素，则显紫红色或樱红色。将 0.1 g 对二甲氨基苯甲醛溶于 10 mL(1∶1)硫酸中即得试剂。许多化合物都可与对二甲氨基苯甲醛反应显色，如麦角新碱显紫色；一些酚类物质如大麻酚类、苯酚等以及一些酚胺类和吲哚类化合物也可显红至橙色，水稀释后变紫。

（2）间苯二酚反应　提取物少许，加硫酸 2～3 滴，微热使溶解，加间苯二酚粉末少许，继续用小火加热，溶液渐显红色，紫外灯下可见绿色荧光。浓度较高时，需加水稀释后方可显荧光。

（3）升华及显微结晶试验　取提取物于表面皿内，另用一较小的表面皿反向覆盖于其上，皿顶部覆盖一小片湿滤纸作冷却之用，底部小火加热。覆盖的表面皿上可得到升华物。显微镜下观察呈无色透明短棒状或棱柱状结晶体。于升华物上滴加氢氧化钡溶液，镜下可见斑蝥酸钡的束状针晶簇。

（五）免疫法

免疫法是以毒物和标记毒物与特异抗体竞争结合反应为基础的一类分析方法。常用方法有酶联免疫吸附测定法(ELISA)、放射免疫分析(RIA)、荧光偏振免疫分析(FPIA)、免疫层析法(immunochromatography)等。免疫法具有灵敏度高(一般可达 10^{-9} 以上)、操作简便快速、检材无需特殊处理等优点，是临床监测和中毒诊断的常用方法。由于免疫法用于各类毒物检测时需要专门的试剂，且试剂具有一定的时效性，故在法医毒物分析中，除了毒品外，大部分毒物因缺乏专门试剂而使免疫法的应用受到限制。但是，天然药毒物中一些毒性很大或安全范围很小的药毒物，如强心苷、蛇毒、河豚毒素等，因临床监测或中毒诊断的需要，有些药毒物临床上有一些专门的免疫检测试剂，必要时可利用这些试剂预试。由于免疫法的专属性不够强，同类药毒物或代谢物，甚至一些结构与之相似的化合物都可能与之产生交叉反应，若作为法医判断中毒死亡的依据，其阳性结果需用其他专属性更强的方法确证。

三、鉴别和确证试验

由于天然药毒物的成分通常比较复杂，故鉴别与确证主要以色谱法和色谱/质谱联用法为主。

（一）色谱法

针对不同结构的化合物和不同性状的检材，TLC、HPLC、GC、CE 等常用色谱方法在天然药毒物的检验中均有应用。

1. 薄层色谱法　与其他几种色谱法相比，TLC 的灵敏度和分离能力相对较低，主要用于一些体外检材的检验。

（1）生物碱类天然药毒物的 TLC 检验　通常采用硅胶 G 板或硅胶 GF_{254} 板；显色剂常用生物碱沉降试剂碘-碘化铋钾，斑点显橙红色；部分药毒物的常用展开剂列于表 9－9 中，供参考。由于大部分生物碱都具有一定的碱性，在展开过程中易与吸附剂中裸露的硅醇基作用而导致斑点拖尾，故在展开剂中常加入适量的碱，如二乙胺、氨水，改善斑点拖尾现象。检验生物碱也有采用碱性氧化铝板的，展开剂则采用中性溶剂，如分离乌头生物碱，展开剂用乙醚-石油醚(10∶1)。

（2）其他天然药毒物的 TLC 检验　检验强心苷和蟾毒配基时，硅胶 G、硅藻土、氧化铝等吸附剂均可应用，以硅胶 G 最常用；由于被分离的化合物无酸碱性，展开剂一般多为中性溶剂；由于强心苷化合物的极性差别较大，展开时应根据具体强心苷的极性选择合适极性的展开剂，使斑点有合适的比移值。对于酸性的毒性成分，如马兜铃酸，由于结构中的羧基具有较强的酸性，为避免因解离而导致斑点拖尾，常在展开剂中加入少量的有机酸。部分常用的展开剂列于表 9－10 中，供参考。

表 9-9 部分生物碱类毒物的常用展开剂

生物碱种类	展开剂		
	条件一	条件二	条件三
乌头生物碱	氯仿-丙酮-二乙胺(5∶4∶1)	苯-乙酸乙酯-二乙胺(10∶8∶1)	环己烷-乙酸乙酯-二乙胺(8∶1∶1)
马钱子生物碱	甲苯-丙酮-乙醇-氨水(4∶5∶0.6∶0.4)	环己烷-丙酮-二乙胺(5∶4∶1)	乙醚-甲醇-二乙胺(9∶1∶1)
颠茄生物碱	甲醇-25%氨水(100∶1.5)	乙酸乙酯-甲醇-氨水(17∶2∶1)	氯仿-甲醇-氨水(8.5∶15∶0.7)
钩吻生物碱	氯仿-无水乙醇(8∶2)	氯仿-甲醇-乙酸乙酯(9∶1∶0.3)	氯仿-环己烷-二乙胺(5∶10∶1)

表 9-10 其他天然药毒物常用 TLC 条件(硅胶 G 板)

毒物种类	展开剂	显色剂
强心苷	二氯甲烷-甲醇-水(84∶15∶1) 二氯甲烷-甲醇-甲酰胺(80∶19∶1) 三氯甲烷-丙酮-乙酸乙酯或甲酰胺(5∶2∶3) 三氯甲烷-苯-乙酸乙酯/甲酰胺(1∶2∶3) 三氯甲烷-丙酮-乙醇-甲酰胺(16∶4∶1∶1)	1. 3%过氧化氢 2.5 mL+25%三氯乙酸 10 mL，紫外灯下观察，各种强心苷显不同颜色的荧光 2. 先喷 2% 3,5-二硝基苯甲酸溶液，再喷 5.7%氢氧化钾乙醇溶液，斑点显红紫-蓝紫
蟾毒配基	氯仿-丙酮-环己烷(3∶3∶4) 苯-甲醇(9∶1)	1. 香荚兰素硫酸试剂，120℃加热，各种配基显不同颜色 2. 10%硫酸乙醇液，加热
马兜铃酸	苯-甲醇-冰醋酸(7∶2∶1) 正己烷-醋酸乙酯-醋酸(60∶40∶0.1) 氯仿-丙酮-甲酸(7∶3∶0.1)	自然光下，马兜铃酸 A 斑点显黄色
斑蝥素	苯-丙酮(8∶2) 苯-丙酮-乙酸(8∶2∶2) 苯-醋酸乙酯-二乙胺(7∶2∶1)	碘蒸气熏蒸或喷以 0.1%溴甲酚绿乙醇液，热风吹至斑点显色清晰。

2. 气相色谱法　气相色谱法具有灵敏度高、分离能力强的优点，但要求被分析的化合物在加热情况下能气化并对热稳定。因此，天然药毒物中只有一部分可直接用气相色谱法分析，如斑蝥素、烟碱、吲哚类生物碱等。有些天然药毒物成分直接用 GC 检测效果不好，需经过衍生化、水解等处理改变其性质后用 GC 检测，但操作相对比较麻烦，例如，马兜铃酸结构中的羧基，可通过酯化处理降低极性、增大挥发性后用 GC 检测；又如，河豚毒素可通过在碱水液中加热水解，然后用 GC 对其水解产物 2-氨基-6-羟甲基-8羟基-喹唑啉(文献中称 C_9 碱基)进性检测。分析一般选用弱极性或中等极性的色谱柱；检测器常用 FID，对生物碱类的毒物可用 NPD 检测器以提高检测灵敏度和选择性；由于成分大多比较复杂，通常采用程序升温加热方式。下面是气相色谱法用于天然药毒物检测的几个示例。

(1) 斑蝥素的检测　斑蝥素属于分子较小的天然药毒物，能升华且对热稳定，适合用气相色谱法检测。检测前检材可根据性状不

同采取不同的处理方式。一般检材可在酸性条件下用丙酮或氯仿提取，提取残渣用合适溶剂溶解后供检；如果检材所含的油脂较多，例如，斑蝥虫体或胃内容物，可用石油醚洗去提取残渣中的油脂，或先用适量丙酮溶解提取残渣，置冰箱中冷冻使油脂凝固析出，过滤除去大部分油脂后，将丙酮液挥干，再用少量石油醚洗涤；如果所得残渣含其他杂质较多，可利用斑蝥素的升华性质，通过加热升华得到较纯的样品，或利用斑蝥素在碱性水液中容易开环溶解的性质，加 1 mol/L 氢氧化钠溶解提取残渣，用有机溶剂萃取除去杂质后，再酸化，用氯仿萃取。色谱柱一般用弱极性或中等极性的甲基硅氧烷和苯甲基硅氧烷类固定液，如 SE－30、SE－52、OV－17 等，FID 检测器。例如：用 5% 苯甲基硅毛细管色谱柱（25 m × 0.32 mm × 0.52 μm），柱温：160℃（2 min）→10℃/min→210℃（8 min）；进样口温度：200℃；检测器：FID，温度 260℃。

（2）生物检材中士的宁的检验　马钱子生物碱属于吲哚类化合物，极性和相对分子质量不大，且热稳定性较好，用气相色谱法检测一般可得到比较好的结果。色谱柱一般采用非极性的甲基硅氧烷类或弱极性的苯甲基硅氧烷类固定液。检材处理：取生物体液或组织匀浆，碱化后用氯仿提取，分取、挥干提取液，残渣用 0.25 mol/L 的硫酸溶液溶解过滤，除去酯溶性杂质；酸水液碱化后再用氯仿萃取，挥干溶剂后的残渣用乙酸乙酯溶解，供 GC 分析。色谱条件：DB－5 毛细管柱（15 m×0.25 mm×0.25 μm）；载气：氮，流速 8 mL/min；柱温：100℃（保持 1 min）→10℃/min→300℃（保持 10 min）；检测器：FID；进样口和检测器温度：250℃，士的宁的保留时间为 16.4 min。也可用 OV－101 或 AT－1 毛细管柱（25 m×0.32 mm），柱温 240℃（3 min）→10℃/min→280℃（5 min）或 240℃（3 min）→20℃/min→280℃（15 min），进样口及检测器温度：280℃；氮气流速 2 mL/min。

（3）SPMEM－GC 法检验体外检材中钩吻生物碱　钩吻生物碱也属于吲哚类的化合物，热稳定性比较好可用 GC 方法检验。含量较高的体外检材，如中草药液、胃液等，可采用比较快速、简便的固相萃取膜（SPMEM）提取方法。取检材 5 mL，调至 pH 10，加入 2.5 cm×2.5 cm 的固相萃取膜（SPMEM）一片，超声 5 min，以加速膜对毒物的吸附；然后取出膜，用蒸馏水冲洗干净，滤纸吸去水分后，用 2 mL 乙醇超声提取 5 min，提取液浓缩后供 GC－NPD 分析。GC 色谱条件：HP－5 色谱柱（25 m×0.30 mm×0.25 μm）；进样口温度：290℃，柱温：200℃（2 min）→10℃/min→280℃；氢气流速 1.5 mL/min，空气流速 60 mL/min，柱流量 1.0 mL/min。钩吻素子和钩吻素甲的保留时间分别为 7.2 min 和 8.7 min。

3. 高效液相色谱法　大部分天然药毒物成分都含有不饱和结构，具有一定的紫外吸收，甚至有些还具有荧光，可用高效液相色谱法测；尤其是一些大分子、极性较强、难挥发的药毒物，如强心苷、乌头生物碱、莨菪烷生物碱、马兜铃酸、蟾蜍毒基、河豚毒素等，不适合用 GC 方法检测，而用高效液相色谱法可得到比较好的效果。高效液相色谱法分析天然药毒物，主要采用反相色谱法。

（1）生物碱类药毒物的检验　生物碱多具有一定的碱性，适合采用稳定性较好、适用 pH 范围宽的分析柱，如 XTerra RPC18 柱，此类固定相表面裸露的硅醇基较少，且可在流动相碱性较强的条件下进行分析，能减轻碱性化合物的解离以及与固定相之间的作用，得到较好的色谱效果。如果采用普通的 ODS 柱分析时，由于固定相一般只适合在酸性和中性的条件下使用，因此，毒物结构中的碱性基团常可与固定相上残留硅醇基作用导致色谱峰拖尾，影响分离效果，故宜

采用反相抑制色谱或离子对色谱，即在流动相中加入一些碱或离子对试剂，以此改善色谱行为。

① 乌头生物碱的检验：乌头生物碱的检测一般采用 C_{18} 柱(25 cm×4.6 mm×10 μm)；流动相常用甲醇-水-氯仿-三乙胺的混合溶剂，比例上稍有变动，例如 70：30：2：0.1、70：30：1：0.1 和 74：25：1：0.1 等。流动相中加入少量有机胺，目的是为了改善色谱峰的拖尾现象，使峰形变锐；因乌头成分很复杂，加入少量的氯仿有利于乌头生物碱与杂质峰的分离。双酯型乌头生物碱的紫外吸收主要来自分子中酯结构部分的苯甲酰基或大茴香酰基，吸收光谱相似，在 230 nm 左右和 270～300 nm 处有吸收峰，为提高检测灵敏度，检测波长一般选在 230 nm 左右；在满足检测灵敏度的情况下，为减少杂质峰的干扰，也可在 270～300 nm 处检测。乌头生物碱的主要水解产物是乌头胺醇类化合物，为饱和化合物，没有明显的紫外吸收，紫外检测器难以检测；而另一水解产物苯甲酸或大茴香酸的吸收光谱与原乌头生物碱的相似，在色谱图上可出现苯甲酸或大茴香酸的色谱峰，但不能凭苯甲酸或大茴香酸的色谱峰作为检出乌头生物碱的依据，因为此两种化合物也可来自其他物质。由于乌头的品种多，且成分比较复杂，加上水解产物，色谱峰一般比较多，当对照物与被检验的乌头品种不一致时，保留值可能不相符，应注意。

② 马钱子生物碱的检验　士的宁和马钱子碱的碱性较强，最好选用 pH 范围较宽、高稳定性的柱子，如 XTerra RPC_{18} 柱。也可用普通的 C_{18} 色谱柱，但一般拖尾常比较严重，可通过在流动相中加入烷基磺酸盐或硝酸盐等离子对试剂改善色谱行为，如乙腈-水(25：75)(含 5 mmol/L 戊烷磺酸钠，用 10%磷酸将 pH 调至 3.0)、甲醇-浓氨水-硝酸铵(27：2：1 或 27：01：0.05)等。也有采用正相色谱法的，硅胶柱，以正己烷-二氯甲烷-甲醇-浓氨水(42.5：42.5：5：0.35)、氯仿-环己烷-二乙胺(60：40：1)、乙醚-甲醇-氨水(80：20：1)等为流动相，通过流动相中加少量碱来抑制色谱峰拖尾。士的宁和马钱子碱的紫外吸收光谱不同，在酸性条件下，士的宁的最大吸收波长为 254 nm，马钱子碱为 265 nm 和 300 nm；碱性条件下，波长稍有长移，如采用阵列二极管检测器，可通过光谱区别两者。检测波长一般选在士的宁的最大吸收波长处。

固相萃取-HPLC-DAD 法检测血中士的宁和马钱子碱示例：样品处理采用固相萃取法，萃取柱用杂化基质填料的 Oasis MCX 柱，同时利用反相色谱和离子交换两种机理吸附样品。取血 1 mL，用 4 mL 去离子水稀释，加 30 μL 磷酸酸化，漩涡混合，离心，取上清液过 Oasis MCX(30 mg)萃取柱(预先用 1 mL 甲醇和 1 mL 去离子水活化)；先用 1 mL 0.1 mol/L HCl 和 1 mL 甲醇分别洗去酸性和中性杂质，再用 1 mL 70%的甲醇水溶液(内含 5%氨水)将待测物洗下。洗脱液于 60℃挥干，残渣用 1 mL 流动相溶解后用于 HPLC 分析。

色谱柱为 XTerra RPC_{18} 柱(150 mm×4.6 mm×5 μm)，同样填料的预柱(20 mm×3.0 mm×5 μm)；流动相为 10 mmol/L 碳酸氢铵(用浓氨水调至 pH 10.5)-乙腈(72：28，V/V)，流速 1 mL/min；柱温：30℃；检测器：DAD，检测波长 254 nm，同时收集紫外吸收光谱。空白添加士的宁和马钱子碱的色谱图及紫外吸收光谱见图 9-25。

③ 莨菪生物碱的检验　莨菪生物碱具有一定的碱性，且一般多采用反相离子对色谱法分析。在流动相中加入适量离子对试剂如十二烷基磺酸钠(SDS)，酸性条件下，十二烷基磺酸根离子与带正电荷的莨菪烷生物碱形成离子对，可使结构相似的几种颠茄生物碱得到较好分离。色谱柱常用 ODS 柱

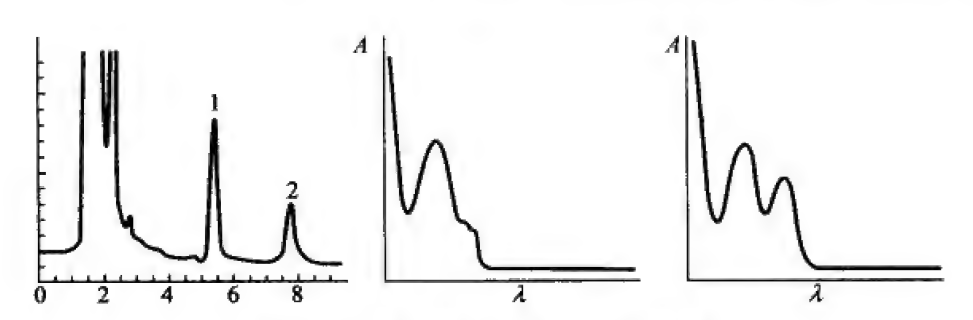


图 9－25 空白添加血色谱图和光谱图

左：色谱图（1. 马钱子碱；2. 士的宁）；中：士的宁光谱图；右：马钱子碱光谱图

（15 cm×4 mm×5 μm），柱温 35℃；流动相可用：①50 mmol/L 磷酸二氢钠（磷酸调至 pH 3.5）－甲醇（48∶52），含 20 mmol/L 十二烷基磺酸钠；②50 mmol/L 磷酸二氢钠（磷酸调至 pH 2.5）－乙腈（65∶35），含 20 mmol/L 十二烷基磺酸钠。莨菪生物碱在 250～265 nm 之间有一吸收带，可用于检测，但此处吸收较弱，对于含量较低的检材，最好同时选择吸收较强短波长 230 nm 检测。

（2）马兜铃酸的分析 马兜铃酸为硝基菲的衍生物，具有较强的紫外吸收，结构中的羧基，具有较强的酸性和极性，直接用 GC 方法检测效果不好，适合用 HPLC 方法分析。文献报道多采用 20～30 cm 的 ODS 柱，流动相中常加入适量的酸以抑制马兜铃酸的解离或加入离子对试剂使马兜铃酸生成疏水性的离子对，以此改善色谱峰形和分离效果，如甲醇－水－醋酸（70∶29∶1）、乙腈－0.1％磷酸（55∶45）、甲醇－1.28％四丁基溴化铵－HAc－NaAc（pH 3.6）（2∶1∶1）等。马兜铃酸 A 在乙醇中有四个吸收峰，最大吸收波长分别在 223、251、318 和 388 nm，在有足够灵敏度的情况下，可选择较长的波长进行检测，以减少杂质干扰。

（3）蟾酥配基的检测 蟾酥中毒或含蟾酥制剂的分析，主要针对其中的蟾酥毒基、华蟾酥毒基和酯蟾酥毒基进行检测。这些蟾毒配基为甾体衍生物，结构中均有一个六元内酯不饱和环的取代基，在 294～300 nm 之间有较强的紫外吸收，适合用 HPLC 方法检测。蟾毒配基为中性弱极性化合物，一般采用普通的 ODS 色谱柱，柱温控制在 30～40℃；常用流动相有乙腈－水（50∶50）、甲醇－水（70∶30）；为了使华蟾毒配基和酯蟾毒配基能更好的分离，也有采用酸性流动相的，如 0.5％磷酸二氢钾－乙腈（50∶50）（用磷酸调至 pH 3.2）；流速为 1 mL/min；检测波长一般选在 296 nm 左右。检验药丸、药片等药物制剂中是否含有蟾酥成分或是否过量时，可用甲醇或乙醇直接提取定容进样。生物样品可用氯仿或乙醚－乙酸乙酯（5∶1）等有机溶剂提取，挥干残渣用甲醇溶解过滤后进样。

4. 毛细管电泳色谱法 毛细管电泳法对于热不稳定的、强极性乃至离子型的化合物均可适用，对具有酸碱性的中草药成分，用此法检验的比较多。方法用样量小、操作简便、分析速度快、分离效率也比较高。下面是几个分析示例。

（1）乌头生物碱的分析 检材提取残渣用缓冲液溶解后，以丁卡因作内标，可按下述条件检测。毛细管柱：50 cm×50 μm，检测波长：235 nm；压力进样 138 kPa/s，运行电压 16 kV，温度 25℃；缓冲液为 70 mmol/L tris－硼酸（pH 8.49）－甲醇（60∶40），次乌头碱、乌头碱、丁卡因和中乌头碱依次出峰。

（2）马钱子生物碱的分析 检材提取残渣用缓冲液溶解后，用盐酸麻黄碱为内标，按下述条件检测。毛细管柱：57 cm×75 μm；检测波长：203 nm，运行电压 30 kV，温度

20℃，电动进样：5 kPa×5 s；运行缓冲液25 mmol/L醋酸钠（含0.01%冰醋酸 pH 3.86）；麻黄碱、士的宁和马钱子碱在5～7 min内依次出峰。

（3）颠茄生物碱的分析　几种颠茄生物碱虽然结构相似，但碱性强弱有别，通过缓冲液组成和pH的调节，可使之较好地分离。例如，毛细管柱40 cm×50 μm，缓冲液：50 mmol/L磷酸盐缓冲液（pH 8.0）-四氢呋喃（9∶1），电动进样5 kV×5 s，运行电压11 kV，检测波长：200 nm，柱温24℃。缓冲液中加入一定量的四氢呋喃，可显著影响样品的迁移时间和分离柱效，提高分离度，可有效分离一般HPLC条件下难以分离的东莨菪碱和樟柳碱。

由于天然药毒物的成分大都比较复杂，在应用各种色谱方法检验时需注意以下几点。

1. 动植物提取样品在薄层板或色谱图上常可出现多个斑点或色谱峰，如钩吻植物提取物，用碘-碘化铋钾显色，薄层板上可出现八九个斑点，勿因此而认为含有多种毒物。

2. 天然药毒物因品种不同，所含的毒性成分及含量也不完全相同，斑点或色谱峰的多少以及保留值也随之而异。检验时，若仅用单一标准品对照，则可能因成分不同而造成漏检。因此，应尽可能多用几种毒性成分标准品对照，同时最好取相同品种的动植物或药材经相同方法提取后进行对照。

3. 虽然色谱法具有分离的功效，但由于天然药毒物的成分复杂，如果色谱条件不合适，很容易导致色谱峰重叠，出现假阳性结果或使所测定的含量偏高。因此，应注意分析的时间不宜过短；单用色谱保留值定性需非常慎重，结果最好用多种色谱法互相验证或用质谱进一步确证。

（二）色相色谱/质谱联用法

色相色谱/质谱联用法是目前毒物分析中最有效和最可靠的确证方法，尤其是对于成分复杂且含量很低的天然药毒物中毒检材，通过质谱确证对保证检验结果的可靠性非常重要。在天然药毒物检测中，质谱分析常采用选择离子监测模式（SIM）或选择反应监测模式（SRM），以减免具相同保留值的杂质干扰和降低化学背景噪音，相对降低低浓度样品的检测限，提高剧毒天然药毒物的检出率和准确率。常用的方法有气相色谱/质谱联用法和液相色谱/质谱联用法。

1. 气相色谱/质谱联用法（GC-MS）　GC-MS技术是一种非常成熟的分析方法，是目前毒物分析中应用最多的确证手段。但是，天然药毒物中仅有部分分子较小、易挥发、热稳定性较好的毒物，如尼古丁、斑蝥素、吲哚类生物碱等，可直接用GC-MS分析；还有一些毒物通过化学处理改善其极性、挥发性和热不稳定性后，可用GC-MS分析，例如河豚毒素经碱水解后，可对其水解产物C_9-碱基进行检测；马兜铃酸需对其结构中的羧基进行衍生化后检测。下面举几个用GC-MS分析的示例，供参考。

（1）GC-MS法检测生物检材中的斑蝥素　斑蝥素能升华且对热稳定，适合用GC-MS分析。检材处理：取0.5 mL血，加0.05 mL浓盐酸酸化使斑蝥素游离，再加1 mL乙腈沉淀蛋白质同时作为萃取溶剂，漩涡混合后离心，取上清液过Extrelut固相萃取小柱，用二氯甲烷将斑蝥素洗脱下来，收集前5 min洗脱液，并于氮气流下浓缩至50 μL，用GC-MS检测。尿样可取0.5 mL，用0.05 mL浓盐酸酸化后，直接用5 mL二氯甲烷萃取，有机萃取相浓缩后进样分析。如需定量，可于萃取前加100 ng的苯甲酮溶液（0.01 mg/mL甲醇溶液）作为内标。

色相色谱/质谱条件：斑蝥素极性不大，

可采用苯甲基硅类固定液，如 SE－54 毛细管色谱柱（12 m×0.2 mm×0.33 μm）；程序升温：70℃（维持 1 min）→20℃/min→290℃（维持 3.5 min），进样口温度 250℃；载气：氦，流速 0.8 mL/min；离子源：EI，源温度：280℃；定性分析采用从 m/z 35 至 m/z 210 全扫描模式，斑蝥素的质谱峰有 128（B）、96、70、39、41 等，可见到 196 的分子离子峰。样品杂质较多或浓度太低的情况下，也可采用选择离子监测模式，斑蝥素的选择离子为 m/z 79、96 和 128；内标苯甲酮的选择离子为 m/z 152 和 182。

（2）GC－MS 法分析钩吻素甲　钩吻生物碱属于吲哚类生物碱，极性不大且对热稳定，中毒检材一般含量低且成分复杂，当其他方法检验显示可能含有钩吻生物碱时，可通过 GC－MS 方法确证。检材处理：植物、药渣、呕吐物、胃内容等固体或半固体检材，可用 1％盐酸振荡或浸泡提取，钩吻生物碱可与酸成盐而易溶于水液；过滤除去水不溶性杂质，滤液用碳酸钠固体调至 pH 9～10 使钩吻生物碱游离，再用氯仿萃取；萃取液经无水硫酸钠脱水、浓缩后，用于 GC－MS 分析。液体检材可直接调成碱性，用有机溶剂萃取，萃取液通过反萃取或过净化柱净化，浓缩后用于分析。

色相色谱/质谱条件：钩吻生物碱的极性不大，可选用弱极性柱；因检材成分一般比较复杂，宜采用程序升温。例如，用 5％苯甲基硅柱（30 m×0.25 mm×0.33 μm）；程序升温：70℃（1.5 min）→10℃/min→270℃，进样口温度：250℃；离子源：EI，源温度：280℃；扫描范围 40～450 amu。钩吻素甲的主要质谱峰有 108（B）、322（M）、279、251、134、77 等。

有毒钩吻生物碱的种类很多，且不同产地的钩吻所含生物碱的种类和含量不完全相同。不同的钩吻生物碱种类，其质谱碎片峰不同，而目前报道的方法一般都只针对个别钩吻生物碱。在标准品缺乏的情况下，可通过建立 GC－MS 多种离子监测的方法对各种钩吻生物碱进行筛查，以减少漏检的可能。

（3）GC－MS 法测定莨菪烷生物碱的甲基化衍生物　莨菪烷生物碱对热不稳定，直接采用 GC 或 GC－MS 分析时，阿托品和东莨菪碱在高温下可部分去水化，生成去水阿托品和去水东莨菪碱，分析效果不好。因此，检测前可先通过衍生化处理改善其挥发性和热稳定性。检材处理：取 0.5 mL 生物检材，加入 5 μL 内标（阿托品－d_3，0.1 mg/mL）和 1.0 mL 硼酸盐缓冲液（100 mmol/L，pH 9.0，），混匀，过 Extrelut 柱净化；15 min 后，用 10 mL 二氯甲烷将莨菪烷生物碱洗脱下来；洗脱液于 40℃真空干燥；残渣溶于 20 μL N，O－双－（三甲基硅）－三氟乙酰胺（BSTFA）－三甲基－氯硅烷（TMCS）（99∶1，V/V），于 80℃加热 15 min；衍生化后，加 100 μL 二氯甲烷于反应混合物中，混匀，取 1 μL 进样。GC－MS 条件：衍生化后毒物极性降低，可采用弱极性的苯甲基硅固定液，如 HP－5 毛细管色谱柱（30 m×0.25 mm×0.25 μm）；程序升温：50℃（1 min）→20℃/min→300℃（保持 5 min），进样口温度 250℃，检测器温度 280℃；不分流进样。离子源：EI，电子能 70 eV；载气为氦气，流速 0.8 mL/min；选择离子监测（SIM）模式，莨菪碱－TMS 监测离子为 m/z 124、140 和 361，东莨菪碱－TMS 监测离子为 m/z 138、154 和 375，内标（阿托品－d_3－TMS）监测离子为 m/z 127。为验证衍生物的其他碎片离子，同时进行从 m/z 50 到 550 的全扫描。

2. 液相色谱/质谱联用法　有些剧毒的天然药毒物成分，如蛇毒蛋白、强心苷、乌头生物碱、黎芦碱、河豚毒素等，由于极性大、难气化或对热不稳定等因素，不适合用 GC－MS 方法进行定性和确证。这些毒物中毒检材的浓度通常很低，加上成分复杂，有些甚至

毒性成分的结构尚不完全明确，因此，长期以来，一直缺少有效的定性确证方法，中毒检验一直是法医毒物分析中的一个难题。近年来，随着 HPLC 和 MS 接口问题的解决和 LC－MS 技术的不断发展，对这些热不稳定、难以气化的毒物的检测有了可以替代 GC－MS 的方法，毒物分析中的一些难题也将逐步得到解决。随着 LC－MS 应用的不断发展，可使复杂天然药毒物中毒的检验结果更加准确、可靠。下面举几个用液相色谱/质谱方法检测天然药毒物的示例。

(1) 体液中 14 种乌头生物碱及其水解产物的 LC－MS 分析　用 LC－MS 方法检测乌头生物碱及其水解产物，无需繁杂的衍生化过程，而且可同时检测双酯型乌头生物碱原药及其各种代谢物和水解产物，包括无紫外吸收的乌头醇胺类化合物。通过选择离子监测，不仅可以减少组分之间以及杂质和背景的干扰，而且可以弥补各种乌头生物碱及其代谢、水解产物对照品缺乏的问题。

检材处理：取血样 2 mL，用 3％高氯酸 8 mL沉淀蛋白，同时作为提取溶剂，离心，分离出上清液，残渣再用同样溶剂重复提取三次，合并提取液过 Sep－Pak Plus PS－1 小柱净化；先用 5 mL 蒸馏水洗去极性杂质，再用 5 mL 乙腈将生物碱洗脱下来；洗脱液于 40℃挥干，残渣用 100 μL 甲醇溶解，再加 400 μL 蒸馏水稀释后供检。尿样 5 mL，用纤维素膜(0.45 μm)过滤后按血样方法过柱净化和溶解。

LC－MS 条件：ODS－2 毛细管柱(150 mm×0.32 mm i.d.)；流动相：线性梯度洗脱，乙腈－0.3％三氟醋酸(TFA)(0：100→80：20，V/V，分析时间为 40 min)，流速 5 μL/min；柱温：40℃；离子源：快原子轰击电离源(FAB)，能量：3 kV；流动相中事先加入 0.8％(V/V)的丙三醇作为离子源基质；选择离子监测模式。质谱图基峰均为各种乌头生物碱及其水解产物的加质子分子离子峰$[M+1]^+$，并以$[M+1]^+$峰为监测离子。图 9－26 为 14 种乌头生物碱及其水解产物的选择离子监测色谱图和部分化合物质谱图。

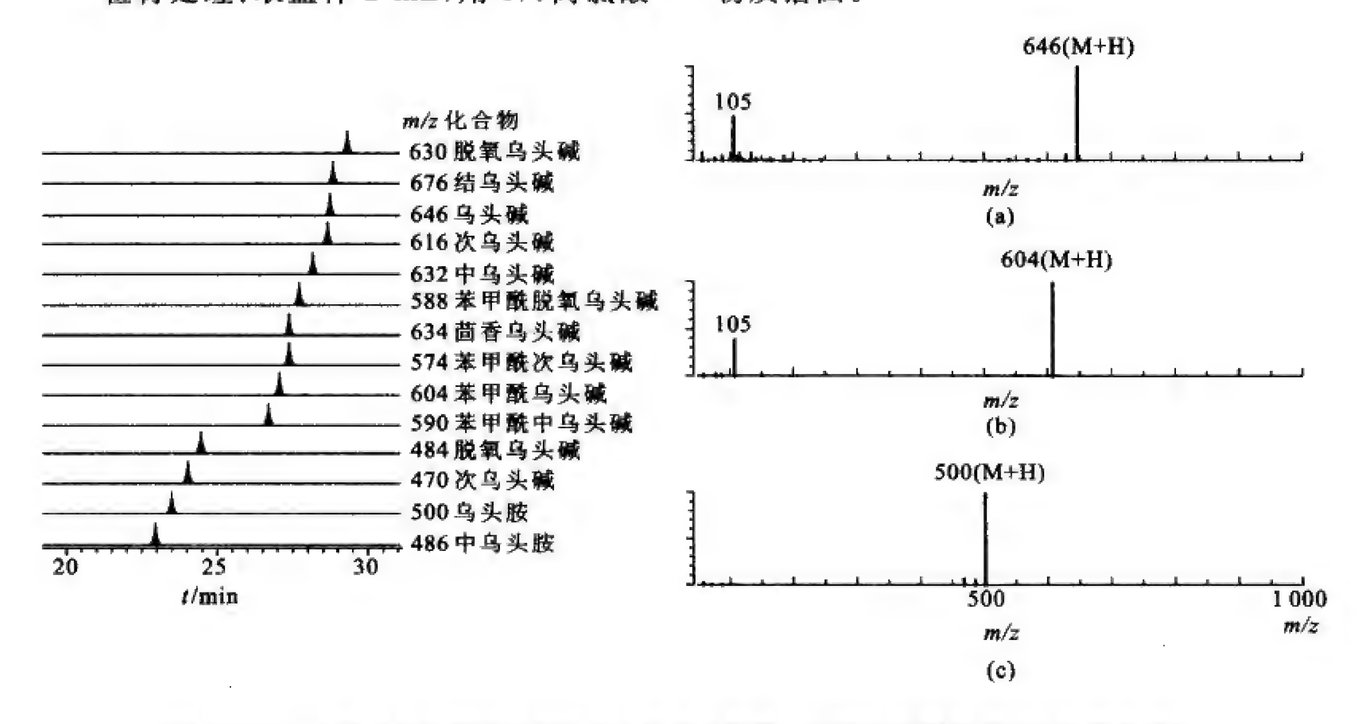


图 9－26　14 种乌头生物碱及其水解产物的选择离子监测色谱图和部分化合物质谱图

左：色谱图；右：质谱图(a. 乌头碱　b. 苯甲酰乌头碱　c. 乌头胺)

（2）LC－MS法检测生物体液中的秋水仙碱　由于秋水仙碱中毒血中浓度下降很快，且很少在很短时间内死亡，因此，尸体血中浓度常非常低，用LC－MS方法可提高毒物的检出率和可靠性；如果血中未检出，必要时可对尿或胆汁进行检测。

检材处理：取血或尿液4 mL，加1.5 mL $(NH_4)_2HPO_4$缓冲液(pH 8.0)控制酸碱性，用4.5 mL二氯甲烷振摇萃取，离心，分取有机萃取液，于45℃挥干溶剂，残渣用30 μL流动相溶解，离心，取上清液0.6 μL进样分析。$(NH_4)_2HPO_4$缓冲液(pH 8.0)的配制：1 mol/L $(NH_4)_2HPO_4$(132.1 mg/mL)，用浓磷酸调至所需pH。

LC－MS条件：分析柱为Microbore C_{18}柱(250 mm×1.0 mm×5 μm)，保护柱为MGU－$80C_{18}$保护柱(10 mm×0.8 mm×5 μm)；流动相：乙腈－2 mmol/L甲酸铵(pH 3.0缓冲液)(75∶25，V/V)，流速：50 μl/min。离子源：ISP，雾化气和帘气：N_2，流速1.16 L/min，正离子模式，源电压：+4.0kV；收集m/z 380～405的总离子流色谱图(TIC)；如果样品浓度太低，TIC图谱不是很明确，可采用选择离子监测(SIM)模式，以提高检测的灵敏度和选择性。秋水仙碱的选择监测离子为$[M+H]^+$ m/z 400±0.5。如需定量，可在样品萃取前加入20 μL托菲索泮(tofisopam，TOF 1.0 μg/mL)作为内标，托菲索泮的选择监测离子为$[M+H]^+$ m/z 383±0.5。上述条件下，秋水仙碱和内标的保留时间分别为2.70 min和4.53 min。方法线性范围为5～200 ng/mL，SIM模式最低检测限可低至0.6 ng/mL。

（3）柱切换LC－MS测定血清中的河豚毒素　河豚毒素的毒性很大且难挥发，LC－MS方法是目前直接检测河豚毒素中毒检材最有效的方法。河豚毒素的尸血浓度一般在每毫升纳克级，加上极性较大，且在碱性和强酸性条件下不稳定，按照一般有机毒物的提取方法处理，提取率较低，不易达到分析方法的检测限。通过在线柱切换技术，可免去复杂的检材处理过程和减少处理过程中毒物的损失，提高毒物的检出率。方法是在色谱仪上连接两根色谱柱，一根是预处理柱(又称富集柱)，另一根是分析柱。先将简单处理的血清样品用流动相导入预处理柱，把河豚毒素富集浓缩在柱上，用蒸馏水洗去柱上样品中的极性杂质，洗脱废液排除仪器，不通过分析柱和检测器；然后将柱阀门切换到分析柱，把富集在预柱上的河豚毒素导入分析柱，并用流动相洗脱下来，通过质谱进行检测。由于河豚毒素极性较大且具有酸碱性，故预处理柱和分析柱均采用反相和离子交换混合柱填料，可增加河豚毒素在柱上的保留和选择性。

检材处理：血样经离心分离出血清，用0.45 μm的聚四氟乙烯滤膜过滤，吸取滤液100 μL直接进样。色相色谱/质谱条件：预柱为Shodex MSPak CX－4A反相和离子交换混合柱(10 mm×4.0 mm i.d.)；用流动相将过滤的血清样品导入柱子，并用蒸馏水洗去杂质，流速0.5 mL/min，柱温40℃；5 min后将阀门切换到分析柱，把富集浓缩在预柱上的河豚毒素导入分析柱。分析柱为Shodex Rspak NN－414反相和离子交换混合柱(150 mm×4.6 mm i.d.)；流动相为20 mM醋酸铵(pH 6.8)－乙腈(90∶10，V/V)，流速为0.6 mL/min；河豚毒素保留时间为18.6 min。离子源：电喷雾离子化(ESI)，正离子模式，雾化气和干燥气为N_2，源温度320℃，流速12 L/min，源电压3.5 kV；选择离子监测(SIM)模式，以河豚毒素的基峰$[M+H]^+$ m/z 320.1作为选择监测离子。方法检测限为0.5 ng/mL，线性范围0.1～100 ng/mL。

（4）LC－MS－MS法检测血浆中的河豚毒素　生物检材中河豚毒素的浓度一般比较低，加上化学背景较高，影响质谱仪的分辨率，通过串联质谱可改善检测结果的信噪比，

降低检测限，提高检出率。

检材处理：取 0.5 mL 血浆，加 1.5 mL 甲醇(含 1%乙酸)，振摇，沉淀蛋白质同时萃取毒物，离心，分取上清液，残渣重复处理一次，合并上清液，于 60℃ N_2 流吹干；残渣用 0.25 mL 1%乙酸复溶，再用等体积氯仿漩涡萃取，去除脂溶性杂质；静置分层，取上层清液过滤离心(0.2 μm 膜，100 000 r/min)，取 20 μL 滤液进样分析。

LC－MS－MS 条件：分析柱为 RPC16 Amide 柱(150 mm×2.1 mm×4.6 μm)；流动相为 10 mmol/L 甲酸铵-甲醇(含 0.5%乙酸)(40∶60，V/V)，流速：0.2 mL/min；离子源：涡流离子喷雾(turboionspray)，正离子模式，源电压 3.3 kV，源温度 350℃；雾化气 12 单位，帘气 10 单位，碰撞气 6 单位；复合反应监测模式(MRM)，监测的母离子为河豚毒素的$[M+H]^+$ m/z 320.1，子离子为类似喹唑啉环结构的碎片离子 m/z 162.19(图 9－27)。上述条件下河豚毒素的保留时间为 2.0 min，血浆最低检测浓度可达 1 ng/mL，线性范围 1～50 ng/mL。

图 9－27 m/z 为 162 的子离子结构

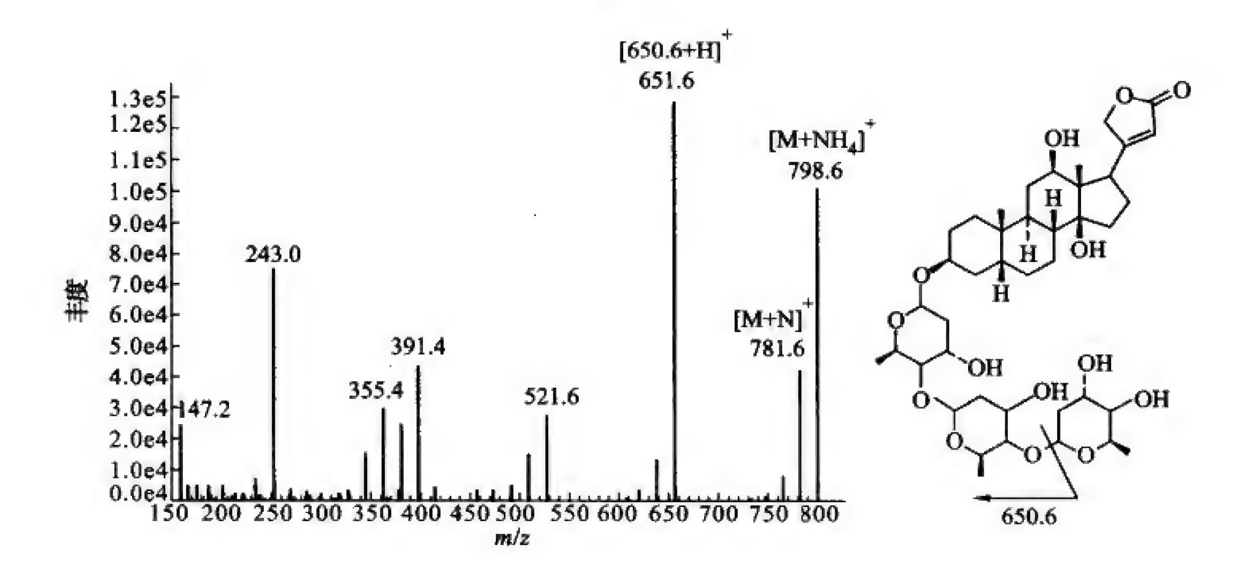
(5) LC－MS－MS 法快速测定血浆中的地高辛　地高辛是临床上治疗心衰的常用药物，治疗量与中毒量非常接近，很容易导致中毒。因中毒检材中的药物浓度很低，且难以挥发，其他方法很难适用。用 LC－MS－MS 方法，经碰撞诱导解离(CID)，每个母离子可产生一个主要的子离子，通过选择反应监测(SRM)母-子离子对，可对检材中痕量的地高辛进行检测，方法检测限可低至 0.1 ng/mL。

检材处理：取 0.1 mL 血浆加氯化铵缓冲液 50 μL(pH 8.8)，再加 300 μL 欧夹竹桃苷乙腈溶液(500 ng/mL)作为内标，漩涡混匀后，加 150 μL 二氯甲烷漩涡萃取 2 min，高速离心 4 min，分离出有机相；40℃ N_2 流下挥干，残渣用 50 μL 流动相溶解，进样 10 μL。地高辛标准储备液为 100 μg/mL 甲醇溶液，用流动相稀释至 4 μg/mL，再配成 0.1～100 ng/mL 不同浓度的标准血浆溶液，用于制备标准曲线。

色相色谱/质谱条件：YMC ODS AQ 柱(50 mm×2.0 mm×3 μm)，柱温：室温；流动相：乙腈－5 mmol/L 甲酸铵(pH 3.4)(50∶50，V/V)，流速：0.2 mL/min；地高辛和内标的保留时间分别为 0.86 min 和 2.37 min，总分析时间 4 min。质谱条件：离子源：API－TISP(turbo ionspray)，正离子模式，源温度：500℃，源电压：5 kV，雾化气和帘气：N_2，流速 5 L/min；质谱采集用复合反应监测模式(MRM)。地高辛的母离子为$[M+NH_4]^+$ m/z 798.6，内标物欧夹竹桃的母离子为$[M+H]^+$ m/z 577.6。母离子经碰撞诱导解离，主要裂解离子为分子离子脱去一个糖后的加质子离子。地高辛和欧夹竹桃苷二级质谱选择监测的子离子分别为 m/z 651.6 和 m/z 433.3。地高辛和欧夹竹桃苷母离子裂解碎片质谱图见图 9－28。

(6) LC－MS－MS 法检测血、尿中的三种强心苷及其苷元　地高辛、洋地黄毒苷和毛花洋地黄毒苷均为临床常用的强心苷药物，采用 LC－MS－MS 方法可同时检测生物检材中的三种强心苷及其水解产物苷元。

检材处理：取全血 1.0 mL，加 3.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 醋酸铵缓冲液(2 mol/L，pH 9.5)，2 000 rpm 离心 5 min，分取上清液过 Oasis HLB 固相萃取柱净化。萃取柱事先依次用 1 mL 甲醇、1 mL 水和 3 mL 醋酸铵缓冲液(0.1 mol/L，pH 9.5)活化。萃取



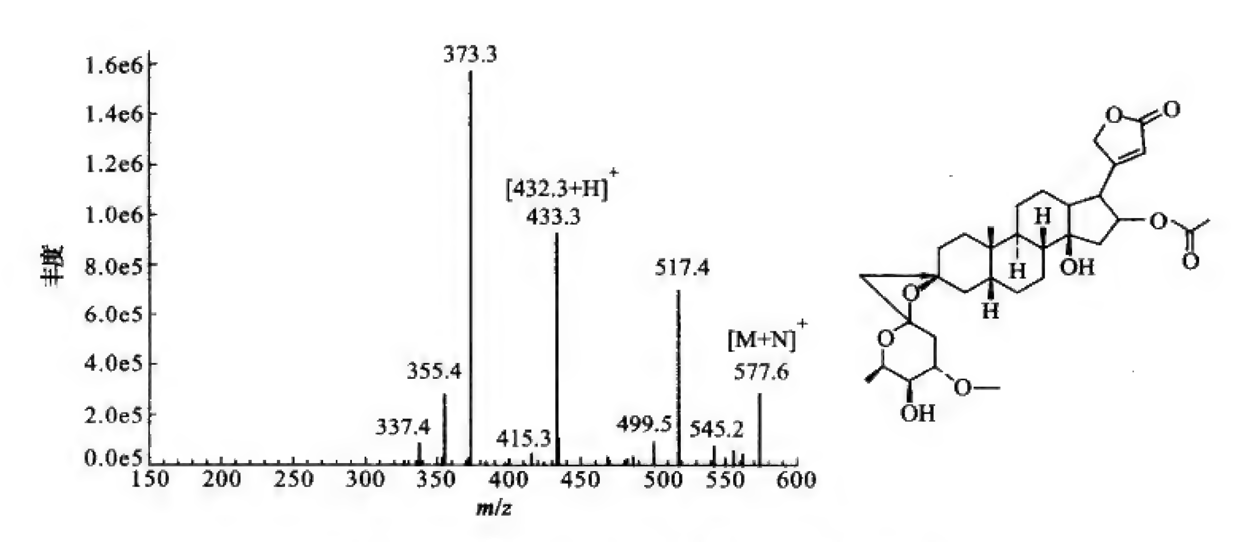


图 9-28 地高辛(上)和欧夹竹桃苷(下)的质谱图

柱加样后，先用 2 mL 醋酸铵(0.1 mol/L，pH 9.5)冲洗杂质，真空抽干柱内液体后，再用 3 mL 氯仿-异丙醇(95：5，V/V)将强心苷类化合物从柱上洗脱下来，洗脱液于 50℃氮气流下挥干。残渣用 30 μL 乙腈和 70 μL 甲酸铵(2 mmol/L)溶液溶解(简单超声助溶)，进样 5 μL。尿样取 2 mL，加 0.2 mL 醋酸铵缓冲液(2 mol/L，pH 9.5)，然后按血样方法处理。如需定量可在提取前加一定量的甲地高辛作内标。

色相色谱/质谱条件：采用 Mightysl RP-C_{18}柱(150 mm×2.0 mm×5 μm)，同样填料的保护柱(35 mm×2.0 mm i. d.)，柱温：室温；二元梯度洗脱，流动相 A 为 20%乙腈-80% 2 mmol/L 甲酸铵水溶液，流动相 B 为 80%乙腈-20% 2 mmol/L 甲酸铵水溶液，0～2 min，保持流动相 B 为 0；2～12 min，流动相 B线性增加至 100%；12～15 min，保持流动相 B 为 100%；15～20 min，回到初始状态；流速 0.2 mL/min。离子源：ESI，正离子模式，源电压：4.5 kV，套气(N_2)70 psi；辅助气(N_2)，10 mL/min，源温度 200℃；选择反应监测模式(SRM)，强心苷化合物及其苷元的母离子为基峰$[M+NH_4]^+$；母离子经碰撞诱导解离(CID)后，用于选择监测的专属性子离子见表 9-11。

表 9-11 6种强心苷元和强心苷的SRM收集时间和监测的母-子离子

	相对分子质量	收集时间/min	母离子$[M+NH_4]^+$ (m/z)	子离子(m/z)
地高辛苷元	390.5	0~8.5	408.3	391.2
去乙酰毛花苷	943.1	8.5~9.5	960.7	651.0
地高辛	780.9	9.5~10.5	798.6	651.0
甲地高辛	794.9	10.5~11.8	812.6	651.0
洋地黄毒苷元	374.5	11.8~12.6	392.2	375.2
洋地黄毒苷	764.9	12.6~15.0	782.6	635.1

小结

天然药毒物指那些同时具有药效和毒性的动植物及其经加工所得的中草药和药物制剂。天然药毒物的毒性成分主要为有机化合物，检材处理和检测一般可按照非挥发性有机毒物的方法进行。但应注意，天然药毒物成分的结构性质差异较大，选择具体的提取分离和检测方法时，应考虑所检验毒物的性质特点。由于天然药毒物的情况比较复杂，应注重对案情、中毒症状、毒物来源等情况的了解以及对动植物残肢碎片、中草药渣、同品种动植物及中草药等具有形态特征体外检材的收集；除了应用各种理化和仪器分析方法进行检验外，必要时可配合形态学方法、动物试验和免疫学等方法进行检验；由于毒物来源、成分复杂，对色谱法得到的结果应尽可能采用色相色谱/质谱联用法确证。

Summary

Natural medicines and toxic agents refer to animals and plants which have pharmacodynamic action or toxicity and obtained Chinese herbal medicines and their pharmaceutical preparations after the processing them. Samples preparations and analysis of natural medicines and toxic agents may carry on with methods of non-volatile organic poisons since their toxic ingredients are mainly organic compounds. But it is worth considering the nature characters of analyzed toxic agents when selecting their concrete methods of samples preparations and analysis since their differences of constitutive properties are bigger. It is important to know about the case, toxic systems, sources of toxic substances and so on. It is also important to collect exosomatic analyzed samples which have morphological characters, for example remnant and fragment of limbs of toxic animals and plants, the Chinese medicine gruffs, the same variety toxic animals and plants and the Chinese medicine and so on. The analysis must be carried on with physical and chemical methods and instrumental analysis, when necessity may coordinate morphology methods, animal trials and immunology method and so on. Owing to sources and ingredients of toxic substances being complex, the results of chromatographic methods must be proved with chromatography-mass spectrogram methods as far as possible.

思考题

1. 与其他几类毒物相比，为什么天然药毒物的中毒检验更为复杂和困难？

2. 根据天然药毒物性质特点，可用哪些方法来进行检验？这些方法一般适合于什么情况下的检验？其结果意义如何？

3. 川乌、雪上一枝蒿、颠茄、三分三、洋金花、青木香、朱砂莲、青娘子、寻骨风、天仙子、铁棒槌、蟾酥、斑蝥、洋地黄、夹竹桃、山慈姑等中草药分别属于那一类天然药毒物？主要含有哪些有毒成分？各有何中毒特点？

4. 常见天然药毒物成分中，哪些是碱性化合物？哪些是酸性化合物？哪些是两性或中性化合物？哪些易水解？在提取净化时，应如何调节和控制检材的酸碱性？

5. 疑及乌头中毒，用色谱检验时，为何样品的色谱保留值会出现与乌头碱标准品或对照乌头不相符的情况？用高效液相色谱法检验时，如果检材组分的保留值与对照品的不同，但紫外吸收光谱相似，能否以此作为检出乌头的依据？为什么？从目前来讲，检验乌头生物碱及其代谢产物最有效的方法是什么？为什么要采取这种方法？

6. 某人死前出现痉挛，并在其衣兜中发现一枚似纽扣状种子样物品。据此，你考虑何种毒物中毒的可能？打算如何进一步检验？

7. 试举一二个例子说明天然药毒物中毒检验的复杂性以及在检验中应注意的问题。

8. 关木通、白木通和川木通是不是同一种药材？所含化学成分是否相同？

9. 强心苷、河豚毒素、乌头碱、马兜铃酸、斑蝥素等是否适合直接用 GC－MS 确证？为什么？

（四川大学华西基础医学与法医学院　颜有仪）

第十章　毒品

要　点	
毒品	毒品是指受国际和国家规定管制的、连续使用后产生依赖性并可造成人体机能损害的天然或合成物质。
毒品分析的任务	通过毒品样品鉴定和对体液(尿液、胆汁、血液等)、组织和毛发中毒品以及代谢物的定性、定量分析，确定毒品种类、数量和质量；判明受检者是否摄毒、摄毒种类、摄毒程度、摄毒史以及摄毒和死亡的关系，为涉毒案件的侦破及审理提供科学证据。
检材及其处理原则	毒品分析包括体外和体内两类检材的分析。体外检材一般经简单处理后可直接用化学试验和仪器方法鉴定。体内检材主要为尿液、毛发和组织(尸体)。尿液中毒品及其代谢物浓度较高，检测时限长，是摄毒鉴定最常用的检材。毛发具有取样方便、毒品稳定、可检测时限长、反映摄毒长程信息的特点，能发挥特殊的证据作用。水解和衍生化处理是体内毒品及其代谢物分析的主要手段。
阿片类	阿片是一类天然或人工合成的具有吗啡药理作用的中枢神经抑制，主要包括鸦片类生物碱、海洛因、哌替啶、美沙酮等。阿片类是当今滥用最为广泛、依赖性最强、对社会危害最大的一类毒品。其中海洛因滥用者体内无原形存在，仅含有代谢物吗啡和单乙酰吗啡。体内单乙酰吗啡的检出可作为确认滥用海洛因的证据。
大麻类	大麻类主要包含四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚等活性成分，其中以四氢大麻酚的精神活性最强。体内大麻分析的主要目标物是代谢物四氢大麻酸，从尿、血或毛发中检出四氢大麻酸可作为吸食大麻的证据。
苯丙胺类	苯丙胺类(amphetamine-type stimulants，ATS)是苯丙胺及其衍生物的统称，可分为兴奋型、致幻型、抑制食欲型和混合型四类。常见滥用苯丙胺类化合物为苯丙胺、甲基苯丙胺、MDMA、MDA等。苯丙胺类毒品多以各色片剂形式出现；苯丙胺类的主要滥用方式为无规律的间断使用。
相关主题词	滥用药物　分析化学　药理学　毛发分析

第一节 概述

一、毒品的概念

我国现行所称的"毒品",不同于传统的毒药、毒物,是有其特定含义的。通常引用的是 1997 年新刑法第 357 条的规定:本法所称的毒品,是指鸦片、海洛因、甲基苯丙胺(冰毒)、吗啡、大麻、可卡因以及国家规定管制的其他能够使人形成瘾癖的麻醉药品和精神药品。从以上的规定可以看出,我国"毒品"的概念属于法律上的概念,即只有经法律明文规定禁止非法使用的物质,才属于"毒品"。

国际上通用的是滥用药物的概念,它是指连续使用后产生依赖性,并具有滥用倾向的精神活性物质。滥用药物的概念揭示了以躯体依赖和精神依赖为基本特征的物质与机体相互作用的本质属性。滥用药物包含非法和合法两大类,非法滥用药物即为我国的"毒品"。因此,毒品可定义为:是指受国际和国家规定管制的、连续使用后产生依赖性并可造成人体机能损害的天然或合成物质。

毒品与机体作用具有以下基本特征:

1. 依赖性　世界卫生组织对"依赖性"下了如下定义:依赖性是由于物质与机体相互作用造成的一种精神状态,有时也包括身体状态,表现出一种强迫性地使用该物质的行为和其他反应。依赖性包含:身体依赖性和精神依赖性。

(1) 身体依赖性　由于长期使用某物质导致身体的功能状态适应了该物质的存在,身体内的该物质必须维持一定浓度,才能保持身体功能状态的稳定。

(2) 精神依赖性　使人产生一种愉快满足的或欣快的感觉,并在精神上驱使该摄毒者具有一种要周期地或连续地用药欲望,产生强迫性用药行为,以便获得满足或避免不适感。

2. 耐受性　耐受性是机体对物质反应的一种状态。可从以下两个方面理解其含义:①同一剂量的物质反复使用后,机体对该物质的反应减弱,以药效降低为其特征;②为了达到与原来相等的反应或药效,必须增加该物质的剂量。

表 10-1 总结了各类毒品的主要特征。

表 10-1　各类毒品的特征

类　型	精神依赖	躯体依赖	耐受性	戒断症状
阿片类	强	强	强	明显
苯丙胺类	强	次强	较强	不明显
大麻类	较强	不明显	不明显	无
可卡因类	强	不明显	不明显	无
致幻剂	较强	不明显	较强	无

二、毒品的分类

1. 按药理作用分类　对毒品的药理学分类一般基于以下四方面的原则:①化学结构和药物对人体产生的主观和生理效应类似;②在体内具有相同的"受体"作用机制;③同一类药物之间具有交叉耐受性和交叉依赖现象;④戒断后能产生相同类型的戒断症状。

根据以上原则,毒品可分为:

(1) 抑制剂　对人体中枢神经系统产生抑制作用的物质,如阿片类、苯二氮䓬类等。

(2) 兴奋剂　对人体中枢神经系统产生兴奋作用的物质,如苯丙胺类、可卡因类等。

(3) 致幻剂　对人体中枢神经系统产生幻觉作用的物质,如大麻、麦角酰二乙胺(LSD)、麦司卡林等。

2. 根据国际公约分类

（1）根据国际《1961 年麻醉品单一公约》管制的 128 种物质，麻醉药物包括三大类：阿片类、可卡因类和大麻类。

（2）根据国际《1971 年精神药物公约》管制的 99 种物质，精神药物也可分为三大类：苯丙胺类中枢兴奋剂、镇静催眠药和致幻剂。

（3）1973 年，世界卫生组织根据国际公约中规定的麻醉品和精神药物，并考虑到还有三类未列入国际管制的精神活性物质：酒、烟草和挥发性溶剂，将引起依赖和滥用的物质分为八类（表 10－2）。

表 10－2 世界卫生组织对引起依赖和滥用的物质分类

类别	物质
乙醇与巴比妥类	酒类、巴比妥类
非巴比妥类镇静药	苯二氮䓬类等
苯丙胺类	苯丙胺、甲基苯丙胺、MDMA、MDA
大麻类	大麻制剂
阿片类	阿片、吗啡、海洛因、美沙酮、哌替啶等
可卡因类	可卡因和古柯叶
致幻剂	麦角酰二乙胺（LSD）、麦司卡林等
挥发性化合物	丙酮、四氯化碳和其他溶剂
烟碱	烟草、鼻烟等

3. 按来源分类

（1）天然类物质　来源于天然植物，主要有鸦片、大麻、古柯叶等。

（2）合成类物质　来源于人工合成，主要有苯丙胺类、苯环已哌啶、哌替啶、美沙酮等。

三、毒品的危害

1. 急性中毒　摄毒最常见并且危害最大的是急性中毒乃至死亡。摄毒者的死亡率为正常人的 15 倍以上，致死原因主要为吗啡过量引致的呼吸抑制；可卡因过量中毒产生中毒性精神病；苯丙胺过量可产生类似精神分裂症偏执症的临床表现；滥用大麻过量也可产生急性抑郁反应或中毒性谵妄；致幻剂 PCP 滥用超量则可出现攻击性行为。

2. 戒断综合征　毒品一旦停止使用，生理功能就会发生紊乱，出现一系列戒断症状。阿片类戒断时出现难忍的类流感综合征，周身疼痛，乃至焦虑与惊恐发作。可卡因戒断以疲乏、嗜睡、心境恶劣为主或偏执状态。酒精滥用戒断出现全身震颤、意识障碍和谵妄状态称之为震颤性谵妄。各种镇静催眠药物戒断常会出现失眠或焦虑症状的反跳，恶心、出汗、无力、共济失调乃至惊厥发作。

3. 人格改变　心理依赖性是各种毒品的共同的特征。主要表现为具有强烈的觅药渴求，以期重复体验用药时的快感。在这种无从制止的驱力促使下，成瘾者形成难以矫正的成瘾行为，人格也逐次随之改变，道德沦丧殆尽。

4. 其他心身障碍与社会功能损害与丧失　最常见的是各种滥用药物引起的局部与周身感染。大麻与致幻剂可引起认知功能的衰减与情志颓唐。酒依赖的心身障碍最为广泛，可引起诸如情绪与社会功能的损伤，增加了自杀率与离婚率；还可以形成脑萎缩性痴呆或各种精神病。

各种成瘾者皆可累及其社会功能。首先是家庭解体和随之产生的子女受虐待或教养不良。随着失业和经济窘迫乃至脱离社会生活，促使成瘾人群走向社会犯罪，影响社会稳定与社会发展，无限地增加了一个国家的财政支出。

四、毒品分析的特点

毒品鉴定和体内毒品分析近年来成为法医毒物分析的主要内容之一。通过毒品样品鉴定和体液（尿液、胆汁、血液等）、组织和毛发中毒品以及代谢物的定性、定量分析，确定毒品种类、数量和质量；判明被验者是否摄毒、摄毒种类、摄毒程度和摄毒史，以及摄毒和死亡的关系，为涉毒案件的侦破及审理提

供科学证据。

毒品分析具有以下特点：

1. 毒品分析的检材种类多而复杂　毒品鉴定的样品种类多，成分复杂，如未经加工或经简单加工的天然毒品、掺假毒品、多组分混合毒品等。体内毒品分析的主要检材为体液、毛发、组织。尿液中毒品和代谢物浓度较高，是毒品检测的常用检材；血液检材因毒品分布少、含量低，一般摄药数小时后就难以检出，故较少使用；毛发具有易获取、稳定、易保存及检出时限长等优点，毛发分析结果可作为毒品滥用疑问时的辅助认定证据。此外，毛发分析能反映较长时间的毒品滥用情况，有时甚至成为提供证据的唯一手段。

对于毒品滥用中毒致死或涉毒的尸体，除尿液外，一般还选取胆汁、肝、肾等滥用药物含量较高的检材，而毛发在任何情况下均是判断是否长期摄取毒品的证据。

2. 体内毒品原形含量低且大多以代谢物形式存在　毒品滥用与毒物中毒相比，其一次摄取的毒品量远未达到中毒的程度，因而体内毒品含量低。其次毒品在体内代谢快且"摄毒鉴定"一般在摄取毒品后数天内进行，因此经常出现的情况是通过特定代谢物的检出证明检验对象曾摄取某种毒品。

3. 样品处理复杂、操作要求高　由于体内毒品的极性代谢物大多以葡醛酸苷的形式存在，因而样品提取前必须先行水解或酶解，使其释放游离；检测前必须衍生化，以改善气相色谱行为，提高检测灵敏度。

4. 系统筛选方法的应用　检材中含有多种毒品是毒品分析的一大特点，因此，一般采用化学反应、免疫分析进行快速筛选，应用灵敏、可靠的色相色谱/质谱联用技术进行确证分析。

5. 毒品认定需有一定的判断依据　当毒品分析获得阴、阳性结果时，其摄毒的认定需有一定的依据：

(1) 分析结果的质量控制　同步分析空白控制样品，应无干扰信号，以排除假阳性结果；同步分析添加控制样品，应有明显的信号，以排除假阴性结果。

(2) 确证分析　毒品初检阳性后，必须经与初检不同化学原理的第二种方法确证，确证方法应比初检方法更专一、更灵敏。

(3) 代谢物的确认　毒品代谢物的检出是其原体进入体内的标志之一。因此，在大多数情况下，检出毒品的同时还应检出其代谢产物，以确保检材及分析过程无外源性物质干扰。

毒品分析的任务和特点，对毒物分析工作者和实验室操作规范提出了更高的要求，必须加强实验室内部的分析质量管理，确保检验结果或鉴定结论的科学、可靠。

第二节　鸦片类

鸦片(opium)的原生植物为罂粟科植物罂粟(papave sonmifun L)(图 10-1)，含有吗啡、可待因、蒂巴因和罂粟等生物碱。鸦片中各生物碱的相对含量因产地和种植方式的不同而差别很大，其中吗啡是鸦片中的主要生物碱，含量为 4%～21%。



图 10-1　罂粟植物及罂粟果

原鸦片(生鸦片)通常为棕色或棕黑色黏性膏状物，新鲜时较柔软，易变形，可被压模成各种形状。贮存后逐渐变硬、变脆、失去黏性，具有甘草气味。原鸦片经熬煮等处理，即为熟鸦片，又称精制鸦片。精制鸦片一般制成条

状、块状物，表面光滑柔软，有油腻感，烧灼时有强烈香甜气味。药用鸦片是将鸦片在适当温度下烘干，制成一定粒度的粉末，并掺入添加剂将吗啡含量调节至10%范围，通常是浅棕色粉末。毒品中也有将鸦片经过提取制成粗制吗啡，一般为吗啡的硫酸盐、苯印胺盐或盐酸盐，呈浅棕色晶体状粉末。

鸦片类的滥用起源于17世纪，主要以鼻吸、烫吸阿片粗制品为主。而后，随着海洛因等药物的问世，滥用方式也变得多样化，由单纯的吸食向肌注、静注发展，联合用药也成为滥用的一大特征。

海洛因(heroin)又名二乙酰吗啡(diacetylmorphine)由吗啡经乙酰化制成，其毒性作用和成瘾性比吗啡更强，是当今对社会危害最大的毒品。海洛因由于加工方法、加工工艺和掺杂剂不同，在外观性状和含量上都有很大差别。纯度高的海洛因多为白色轻细粉末，含量可达80%以上。纯度低的海洛因，可因原料不纯或加工粗糙而含大量杂质，或被故意加入咖啡因、士的宁、阿司匹林等化合物，海洛因含量一般不到50%；通常为粉末状或颗粒状，也有较硬的块状；颜色有灰白、浅黄、灰色、棕色等。

海洛因吸食和注射吸收良好，可大量穿透血脑屏障，迅速产生作用。海洛因进入人体后在血脂酶的作用下迅速代谢成6-单乙酰吗啡(血浆半衰期为2～3 min)，然后进一步在肝脏代谢成吗啡并与葡萄糖醛酸结合。海洛因在尿中的主要代谢产物有6-单乙酰吗啡、游离吗啡、吗啡葡萄糖醛酸结合物、可待因等(图10-2)。

海洛因 → 6-单乙酰吗啡 → 吗啡；可待因；去甲可待因；结合物

图10-2 海洛因在体内的代谢

代谢途径的知识在毒物分析中具有非常重要的意义，因为代谢物的存在可以是曾经摄入母体药物的唯一指征，母体药物与代谢物的相对浓度也可指明是否存在耐受性。更重要的是分析工作者必须确信所用的任何提取、检测、测定方法不仅适用于药物原体，同时也适用于主要代谢物。

一、检材处理

（一）尿液

尿样是海洛因、吗啡、可待因定性分析的最佳检材。海洛因滥用者尿中无原体存在，仅含有高浓度的吗啡和少量的单乙酰吗啡。尿中吗啡可来源于滥用海洛因的代谢，也可以来源于含吗啡或可待因的药物，而单乙酰吗啡仅来源于海洛因的代谢。因此，体内单乙酰吗啡的检出可作为确认滥用海洛因的证据。

尿中排出的吗啡和可待因大多以葡萄糖醛酸苷（主要）和硫酸苷（少量）的形式存在，故提取前必须先行水解，一般有酸水解和酶水解两种方法。完全酶水解需同时使用葡萄糖醛酸酶和硫酸酶，成本昂贵；酸水解可破坏所有的结合物，但要注意的是尿样中的单乙酰吗啡也将转化为吗啡。

尿样处理方法示例：

单乙酰吗啡和游离吗啡、可待因的提取：

取 2 mL 尿样，加入内标及 2 mL pH 6.8 磷酸盐缓冲液。小柱分别用 2 mL 甲醇，2 mL 水，2 mL 磷酸盐缓冲液活化。尿样以 1～2 mL/min 速度上柱，用 2 mL 水，1 mL 正己烷洗涤小柱，最后用 2%氨化甲醇 2 mL×2 洗脱，洗脱液用氮气流吹干。加入衍生化试剂：A. 50 μL 丙酸酐，20 μL 吡啶或 B. 30 μL MSTFA，50 μL 乙腈，置微波炉衍生化 2 min 或于 65℃ 保温 30 min，氮气吹干后加 20 μL 乙酸乙酯溶解，供分析单乙酰吗啡、游离吗啡和可待因。

总吗啡或可待因的提取：

取 2 mL 尿样，加入内标，然后加 0.2 mL 浓盐酸，100℃ 水解 0.5 h，冷却后用正丁醇 1 mL×2 洗去杂质。水解液用 NaOH 调至 pH=9，加 0.5 mL pH 9.2 的硼酸盐缓冲液，用氯仿：异丙醇（9：1）混合溶剂 2 mL×2 混旋，离心。将有机层转移至另一离心管中，在 50℃ 水浴下用氮气吹干。同上衍生化。

（二）组织

肝、肾是毒品代谢和排泄的主要器官，许多毒品都集贮在这些脏器中，其浓度常常较血液高得多，且组织中毒品浓度也反映了毒品作用的强度，是定量分析最有价值的检材。服用海洛因较长时间以后，血中很难再检出吗啡，而组织（如肝）中吗啡的含量显著大于血液。药物在肝内主要以吗啡葡萄糖醛酸结合物的形式存在，吗啡葡萄糖醛酸结合物的水溶性较好，很难直接用一般的有机溶剂从肝提取，故采用水把葡萄糖醛酸结合物从肝中浸提出来。浸提液中含有较多的内源性杂质和吗啡葡萄糖醛酸结合物，然后经酸水解游离出吗啡供有机溶剂提取以便和体内杂质分离。

（三）毛发

毛发摄毒有类似于慢性中毒的用药方式，毒品在毛发中的积累使毛发成为毒品分析的重要检材，毛发分析能反映较长时间的摄毒情况是其主要特征。此外，毛发检材具有取样方便、药物稳定、较易保存、可检测时限长、不易掺假等其他生物检材不具备的一些优点。

对海洛因摄毒而言，体液、组织分析通常只能检测到吗啡（单乙酰吗啡仅在摄毒后 24 h 内存在），而头发分析可同时检测到单乙酰吗啡和吗啡，提供更为确凿的滥用海洛因的证据。且头发分析受时间限制少，可在吸毒后数月至一年内检出毒品或代谢物。

毛发的采集部位主要为人头顶后部的头

发，人体其他部位的毛发，如腋毛、阴毛、男性胡须等所反映的时间信息不如头发清晰。头发具有一定的生长速度，一般为 0.8～1.2 cm/个月。将头发标记根部、尾部，剪成数段，分别对每一段进行测定，根据测定结果并结合头发的生长速度，可以大致推测过去的吸毒情况。

毛发处理方法示例：

取头发样品，用二氯甲烷清洗二次（保留、测定清洗液，可判断是否外部污染）。晾干后剪成约 1 mm 长的小段。

准确称取剪细的头发 20～50 mg，添加内标，加入 0.1 mol/L 稀盐酸溶液 1 mL，在 45℃ 水浴中保温 18 h。冷却后调 pH 为 8，加 1 mL pH 为 8.4 的磷酸盐缓冲液，用氯仿-异丙醇-庚烷（50∶17∶33）混合溶剂 2 mL 混旋提取；或上 Bond Elut 小柱，用 2 mL 含 2% NH_4OH 的氯仿-异丙醇（80∶20）混合溶剂洗脱。提取液或洗脱液转移至另一离心管中，45℃ 下氮气吹干。残渣中加 MSTFA∶乙腈（1∶1）混合溶液 50 μL 于 70℃ 衍生化 30 min 后，取 1～2 μL 进样。

吗啡的气相色谱行为极差，检测灵敏度很低，甚至在一些色谱柱上不出峰，因而衍生化是样品处理中的重要环节。酰化、硅烷化、氟化试剂均可用于单乙酰吗啡、吗啡、可待因的衍生化。比较吗啡和可待因的各种衍生物稳定性，发现酰化物最稳定。其中乙酰化物将吗啡和单乙酰吗啡均转化为海洛因，不能用于区别这些化合物的分析，而丙酰化既可产生稳定的化合物同时又可区分吗啡、单乙酰吗啡和可待因。硅烷化也是理想的选择。

二、检测方法

1. 毒品鉴定　对于较纯净的可疑毒品粉末可直接取少量或有机溶剂溶解后供试；对组成较复杂的检材需用溶剂提取后，取挥去溶剂的残留物或酸性水溶液供试。

鸦片生物碱能与多种生物碱显色试剂反应，用作预试验简便、快速。但生物碱显色试剂也可与其他一些含氮有机化合物反应产生颜色，所以阴性结果有意义，阳性结果时需用其他方法进一步鉴别和确证。

（1）甲醛-硫酸（Marquis）试验　取少量可疑检材，加 3～4 滴甲醛-硫酸试剂反应。吗啡、海洛因、可待因、乙酰可待因、单乙酰吗啡等显紫红色或紫堇色，那可汀显鲜黄色，蒂巴因显橙色，罂粟碱不显色。灵敏度约 0.05 μg。

（2）亚硒酸-浓硫酸（Mecke）试验　取少量可疑检材，加 1 滴硒硫酸试剂反应。吗啡、海洛因、乙酰可待因等显深绿色，可待因、那可汀显蓝绿色，罂粟碱显暗蓝色。反应灵敏度 0.1～0.5 μg。

（3）薄层色谱法　疑为鸦片、海洛因等毒品的检材，用适当溶剂溶解或提取浓缩后点样。

以硅胶 G 或硅胶 GF_{254} 板为固定相，可选取甲苯-丙酮-乙醇-氨水（45∶45∶7∶3）、醋酸乙酯-甲醇-氨水（85∶10∶5）、乙醚-丙酮-二乙胺（85∶8∶7）等展开剂。展开剂中加入一定比例的氨水或有机胺，以改善斑点拖尾现象。显色可用碘-碘化铋钾试剂或酸性碘铂酸钾试剂，前者使斑点显橙色，后者显蓝色。R_f 值由小到大依次为吗啡、可待因、蒂巴因、海洛因、罂粟碱和那可汀。

检验时应用标准品或已知生物碱作对照。检材为鸦片时，除吗啡斑点外，一般还应有可待因、蒂巴因、那可汀、罂粟碱等斑点，但无海洛因斑点；检材为海洛因时，主要为海洛因的斑点，还可能有少量吗啡、单乙酰吗啡等斑点。

鸦片、海洛因毒品的确证分析和定量分析应采用仪器分析方法（条件见体内分析）。

（4）海洛因来源鉴定　毒品海洛因因产地、制造过程、销售渠道等不同，其成分和含量各异。提取并分析海洛因样品中包含的来

源信息，对于寻找毒源，打击制毒、贩毒等犯罪行为具有重要意义。

海洛因来源鉴定有很多方法，除了颜色和质地可提供初步信息外，主要有以下三种鉴定方法：①海洛因样品中海洛因含量以及各种有机掺杂物分析。不同制造过程所用原料、工艺不同致毒品的成分和含量也不同。此外，不法分子为了牟取高额利润或增强吸食毒品的效果，常在销售的海洛因中添加咖啡因、对乙酰氨基酚、非那西丁、茶碱、普鲁卡因等化合物。用于海洛因中掺杂物分析的常用方法有高效液相色谱法、气相色谱/质谱联用法、傅立叶红外光谱法等技术。②海洛因样品中的痕量无机元素分析。毒品植物与生长地无机元素的品种和分布具有一定的关联性。利用电感耦合等离子体质谱法通过微量元素分析可提供一定的地域信息。③海洛因及其吗啡的稳定放射性核素比例分析。由于物种、气候、地域等不同造成地球上的碳、氮、氢、氧等放射性核素的丰度发生变异。使用稳定放射性核素比值质谱法分析海洛因及其前提物吗啡等也可得到毒品来源地的信息。

2. 免疫法　吗啡、可待因的定性分析一般可分为两步，即筛选分析和确证分析。免疫法具有灵敏度高、操作简便、快速的优点，适合于尿样筛选分析的要求。

方法：滴 3 滴尿样于试剂盒的反应孔中，静置 3～5 min，观察结果。呈现一条紫红线为阳性反应；呈现两条为阴性反应。

免疫试剂盒的吗啡、可待因和葡萄糖醛酸吗啡苷的检出限指标分别为 300、300 和 500 ng/mL，一般可在滥用海洛因后 3 天内检出，故阴性结果可信。但是免疫法不能分辨结构相似的同类药物，特异性不强。如目前商品化的吗啡免疫板在哌替啶浓度 500 ng/mL 时即呈阳性反应，其次烯丙吗啡纳洛芬、纳洛酮、雷尼替丁、奥复星及抢救药利多卡因均呈阳性反应。故免疫反应阳性结果需用 GC－MS 确证。

3. 仪器分析法

(1) 气相色谱法　GC 法分离好，灵敏度高，是分析鸦片类药物的首选方法。采用 NPD 和 ECD 可增加灵敏度和专一性。吗啡经 PFPA 和 HFBA 衍生化具有良好的电子捕获性质，ECD 最低检出限可低于 1 ng/mL。色谱柱通常选用甲基硅酮(SE－30)和苯基甲基硅酮(OV－17)作为固定相，如要分析海洛因所有的代谢物，极性大的色谱柱较极性小的分离效果好。

(2) 高效液相色谱法　HPLC 法的最大优点是能分离分析一些极性大、难挥发的化合物，因而特别适宜于血液、尿液、脑脊液、玻璃体液等生物体液中吗啡及极性代谢物的检测。HPLC 对样品处理要求不高，极性代谢物一般无需衍生化即可用于分析。HPLC 法还能直接检测葡萄糖醛酸吗啡结合物，生物体液无需水解、衍生化，经固相小柱提取后即可分析。或采用柱切换技术，尿样不经任何处理，直接检测游离吗啡和吗啡葡萄糖醛酸结合物。

HPLC 法分析常采用电化学、荧光和紫外检测器，其中电化学和荧光检测器灵敏度较高。HPLC 还可与质谱联用，准确、灵敏地同时测定吗啡、单乙酰吗啡、3－和 6－葡萄糖醛酸吗啡苷。

液相色谱/质谱联用法参考条件：
色谱柱：Lichrosorb100 RP－C_{18} 3 mm×125 mm 柱
流动相：水－乙腈－四氢呋喃－甲酸(100∶1∶1∶0.1)；流速 1 mL/min
质谱：m/z 272 用于检测去甲吗啡
m/z 286 用于检测吗啡
m/z 462 用于检测葡萄糖醛酸吗啡苷
最低检出限：葡醛酸吗啡苷 0.5 ng/mL
吗啡 0.5 ng/mL
去甲吗啡 0.5 ng/mL

(3) 气相色谱/质谱联用法　根据生物

检材中吗啡类的含量可选择全扫描或选择离子法。选择离子法可大大提高灵敏度，并消除或降低背景信号，使峰高、峰面积的测定更具特征性。SIM法的特异性取决于：①所选的质量单位是对被检物有特征意义的；通常选择的质量数越高，则受其他化合物干扰的可能性越小；②从各选定质量单位离子间的相对丰度比可判断被检物的纯度；③GC保留时间。故用SIM法既可定量又可定性。一般选择分子离子、基峰离子和丰度较大的特征离子。吗啡、可待因、单乙酰吗啡各衍生物的常用选择离子见表10-3。

表10-3 吗啡、可待因、单乙酰吗啡各衍生物的常用选择离子

衍生化	化合物	选择离子（m/z）
乙酰化	吗啡-2AC	369,327
	可待因-AC	341,282
	乙基吗啡-AC	355,327
三氟乙酰化	吗啡-2TFA	477,364
	可待因-TFA	395,282
	乙基吗啡-TFA	409,296
五氟丙酰化	吗啡-2PFP	577,414
	可待因-PFP	445,282
	单乙酰吗啡-PFP	473,414
	乙基吗啡-PFP	459,296
MSTFA	吗啡-2TMS	429,236
	可待因-TMS	371,196
	单乙酰吗啡-TMS	399,340
	乙基吗啡-TMS	385,192

案例：

某18个月大的幼儿遭他人报复被两次注射海洛因。待其父母发现幼儿出现精神萎靡及频频呕吐的症状、脚上的针眼和施毒工具注射器时，才推断幼儿已被他人施毒报复。此时，已距最后一次作案时间10日之久。

但确认事实必须有科学证据。采取幼儿尿液分析，结果阴性；采取幼儿头顶头发，经GC-MS-MS法分析，在发根部头发段（距发根1 cm）样品中检出单乙酰吗啡和吗啡成分，说明此幼儿在近1个月内有海洛因接触史。毒物分析结果为法庭审理提供了依据。

评价：此案采样时，已超过尿液的检测时限，故得到阴性结果。而头发分析的难度在于海洛因进入体内仅2次，蓄积在头发中的量极微，必须用高灵敏度的二级质谱法检测。

第三节 大麻

大麻（Marijuana，Cannabis Sativa，Hashish）为大麻科大麻属一年生草本植物（图10-3），雌雄异株，原产于亚洲中部，现几乎遍及全球，既有野生，也有人工栽培。



图10-3 大麻植物

大麻中成分多且复杂，已提炼和鉴别出400多种化合物，但主要活性成分为Δ^9-四氢大麻酚（Δ^9-tetrahydrocannabinol，简称THC）、大麻二酚（cannabidol，简称CBD）和大麻酚（cannabinol，简称CBN）等，其中又以Δ^9-四氢大麻酚的精神活性最强。根据大麻中THC、CBN和CBD的含量，可将大麻植

物划分为药用大麻和纤维大麻。国际上将大麻制成的毒品分为三类：大麻草、大麻酯和大麻油，其四氢大麻酚的含量分别为0.25%～8%、4%～12%和20%～60%。大麻草由大麻的部分茎、花、叶和种子，干燥压制而成；大麻酯是从大麻植物雌株花的顶端、叶、种子及茎中提取的树脂，其颜色因产地不同而异，有黑色、黄绿色、土褐色等。大麻油系大麻草中提取而来，呈深绿色。由于产地的气候、土壤、品种、种植方法和生态环境的不同，大麻的有效成分的含量可相差很大。

大麻是一种独特的精神活性物质，它的化学结构及药理作用难以归类到现有的任何一种精神药物中。在低剂量时，大麻既有兴奋作用，又有抑制作用。在高剂量时，则抑制作用占主导。大麻产生的躯体依赖性虽不如阿片、巴比妥、乙醇那么严重，但滥用大麻可引起抑郁、焦虑、人格障碍等。

大麻的常见用药途径为抽吸，其次为口服，采用静注方式的极为少见。用药途径不同，吸收与代谢也有诸多不同。抽吸滥用大麻时，约18%的THC通过肺部吸收进入体内，THC的最高血浓度出现在吸食开始后的8 min。口服的吸收量仅相当于抽吸的1/3左右，口服的起效时间较慢，短者30 min，长者需2 h。大麻极易溶于脂类，故易于通过细胞及血脑、胎盘屏障。血中的THC绝大部分与脂蛋白及清蛋白相结合，只有3%呈游离态。

大麻的主要成分THC进入体内后在肝脏和其他组织中很快代谢成11-羟基-四氢大麻酚(简称11-OH-THC)，继而进一步代谢成四氢大麻酸(简称THC-COOH)，后者常与葡萄糖醛酸形成结合物。

一、检材处理

一般情况下，尿和血是检验体内大麻酚类物质的常用检材。对已超过血、尿检测时限或需判断是偶尔吸食还是长期滥用的，可取毛发为检材。

体内大麻分析的主要目标物是代谢物四氢大麻酸。从尿、血或毛发中检出四氢大麻酸可作为吸食大麻的直接证据。

大麻酚类脂溶性强，进入体内后存在于脂肪内，排出体外很慢，尿液的检测时限(约2周)远远长于阿片类、可卡因和苯丙胺类药物。

血液和唾液中大麻酚类的阳性结果可判断其在短时间内使用过大麻。

检材采取处理时应注意以下问题：

1. 活体取材时，可采取受检者尿液、毛发为检材；尸体解剖时取样，除采血、尿、毛发外，还应考虑采取胃及胃内容物和肝等组织检材。手指、牙齿上的烟釉也是有用的检材。

2. 大麻酚及其代谢物都是类脂溶性化合物，在水溶液中很快吸附在玻璃表面。因此，检材存放、处理所用玻璃器皿，应经硅烷化以减少吸附。聚丙烯和聚乙烯容器对检材中大麻酚及其代谢物浓度影响较小。

3. 由于四氢大麻酸易于水解和吸附，其浓度变化很快。因此，检材必须低温存放，以减缓四氢大麻酸的降解。

4. 大麻及其代谢物在体内大部分以葡萄糖结合物形式存在，所以尿样提取前要先行水解。碱水解不能破坏大麻酚类与葡萄糖醛酸形成的醚键，但可水解四氢大麻酸形成的酯键葡萄糖苷。头发检材采用甲醇超声法、酸水解或酶水解方法都不足以提取目标物，只有经碱水解后才可分析大麻酚类及代谢物四氢大麻酸。

5. 生物检材中大麻及其代谢物四氢大麻酸的提取通常采用正己烷：乙酸乙酯(9：1)和乙酸乙酯：乙醚(1：1)等有机溶剂。为了避免酚羟基和双键氧化，水解和浓缩时，加热的温度不宜过高，时间也不宜过长。

6. 四氢大麻酸结构中含羧基和酚羟基，色谱行为很差，必须经衍生化处理。BSTFA衍生化方法简便，反应完全，且无需吹干即可进样。五氟丙酸酐衍生化可提高质谱分析(负化学源)灵敏度，但衍生化反应不完全。

检材处理方法示例：

大麻酚类的提取(THC,CBD,CBN等)

取1 mL血或尿样，加入1 mL 0.1 mol/L磷酸盐缓冲液，根据各种酶的要求用50 mmol/L磷酸或0.1 mol/L NaOH调节最佳pH，再加入5 000单位的β-葡萄糖醛酸酶，加盖后混匀，放入37℃水浴中过夜。然后加入2 mL乙腈，混旋，离心。分出上清液后用0.5 mL 2 mol/L NaOH调pH至13.0，加入4 mL正己烷-乙酸乙酯(9∶1)混旋，离心。转移有机层，氮气流下吹干。

THC-COOH的提取

取1 mL血或尿样，加入NaOH溶液调pH>13，摇匀后置60℃水浴中碱水解15 min。水解液冷却后加入1 mL 1 mol/L HCl，调pH至4~5，用4 mL正己烷∶乙酸乙酯(9∶1)混旋提取。转移有机层，氮气流下吹干。残余物中加乙腈20 μL，BSTFA 25 μL，于70℃保温30 min或置微波炉加热3 min，冷却后供分析。

二、检测方法

1. 毒品鉴定 大麻制剂的分析，比体内THC及其代谢物的分析相对简单得多。一般可采用简便快速检测方法。

(1) 快蓝B反应 大麻酚类化合物在碱性条件下可与快蓝B作用生成有色物质，四氢大麻酚显红色，大麻酚显紫色，大麻二酚显橘红色。取检材少许于试管中，加入少量快蓝B固体试剂和氯仿，振摇后，滴加氢氧化钠溶液，再振摇2 min，静置，若含大麻酚类化合物则氯仿层显红色。

(2) 香夹兰素反应 大麻酚类化合物可与香夹兰素作用生成绿色物质，并在盐酸作用下转变为紫色。取检材适量于试管中，加香夹兰素试剂振摇，若显绿色，则再加盐酸，振摇后静置；若绿色转为紫色，可用氯仿萃取，如有大麻酚类化合物，则氯仿层显紫色。本反应灵敏度很高，检材取样量宜小。

应注意颜色反应的专属性不强，仅用作预实验。

(3) 薄层色谱法 常用硅胶G板。展开剂可用苯-正己烷-二乙胺(25∶10∶1)、环己烷-二异丙醚-二乙胺(13∶10∶2)等。显色剂为快蓝B试剂。大麻毒品在薄层板上常出现多个斑点，因此检验时应用四氢大麻酚、大麻酚、大麻二酚等化合物或已知大麻毒品作对照。本方法检出限为0.25~0.5 μg。

大麻毒品的确证分析和定量分析应采用仪器分析方法(条件见体内分析)。

2. 免疫分析 一般筛选分析多采用免疫方法。取尿液3滴于大麻免疫板的反应孔中，静置3~5 min，质控区出现紫红色带为阳性；质控区和测试区均出现紫红色带为阴性。四氢大麻酸免疫分析的检测限为50 ng/mL。

但筛选分析易受各种因素干扰，如氯化钠、漂白粉、醋、KOH、肥皂、丙酮、氨水等，均可能产生假阳性、假阴性结果。因此需要应用GC-MS、HPLC法进一步确证。

3. 仪器分析法

(1) 气相色谱/质谱联用法 体内大麻酚类提取后可直接分析，代谢物THC-COOH必须经衍生化才能进行GC-MS分析。大麻酸衍生化后用GC-MS的NCI模式较EI灵敏度高。

(2) 液相色谱/质谱联用法 极性THC-COOH用液相色谱/质谱联用法分析无需衍生化，且可获得高灵敏度。

液相色谱/质谱联用法参考条件：

色谱系统：Zorbax Eclipse XDB-C_{18}柱

流动相：0.05 mol/L醋酸铵甲醇-水(75∶25)

质谱系统：Electrospray ionization/negative ion模式

最低检出限：THC-COOH：5 pg/mL尿

第四节　麦角酰二乙胺

麦角酰二乙胺(lysergic acid diethylamide,LSD)属麦角类生物碱,也可由人工合成。异构体D型LSD有非常强的致幻作用,而L型则无活性。LSD通常是制成像邮票大小的、有各种图案的、花花绿绿的小纸片(图10-4),每片纸含35～77 μg LSD。



图10-4　LSD纸片

LSD滥用量一般为50～300 μg,口服后30～40 min内起效。出现眩晕、无力、视物模糊及异常,并伴有欣快或焦虑,然后知觉、视觉、听觉发生变化,进入难以置信的幻视状态。LSD滥用后还会出现副反应"回闪症状",即在不用药情况下出现的既往用药反应。

口服和注射LSD后吸收很快,口服后30～40 min起效。LSD极易与血浆蛋白结合,并容易通过血脑屏障,在脑脊液内达到峰值浓度的时间仅需10 min。LSD在人体内的消除半衰期约175 min,主要代谢器官为肝脏。通过*N*-去甲基化,*N*-去乙基化和羟化成无活性的代谢物,仅有很少量的LSD(小于1%)以原形排泄。由于这些因素,原药的检测时限很短(12～22 h)。

一、检材处理

LSD遇热、碱或紫外线照射下不稳定,因此,LSD检材的保存条件和时间非常关键。尿样检材在25℃存放4周以上可损失15%,37℃和45℃存放3天以上即损失近10%,冷藏或冷冻保存,LSD含量没有明显变化。存放LSD检材可选择茶色玻璃瓶或高密度的聚乙烯容器以避免紫外线照射。

1. 体外检材的处理　检材经剪碎后加入0.5 mL甲醇∶水(50∶50),混旋,加入2滴浓氨水和1 mL 3-甲基丁醚,在暗处超声20 min,离心,转移醚层,氮气流下吹干。

2. 体内检材的处理　活体检材主要为体液和毛发。体内检材可用液液提取、固相提取或免疫亲和提取。其中免疫亲和提取是新型的样品处理方法,可较好地从生物检材中提取目标物。

检材处理方法示例:

固相提取法

4 mL尿样中加入2 mL 0.1 mol/L的磷酸盐缓冲液(pH 6.0),上已活化的Bond Elut Certify小柱(依次用2 mL甲醇、2 mL 0.1 mol/L的磷酸盐缓冲液(pH 6.0)活化)。柱经1 mL 1 mol/L醋酸和5 mL甲醇清洗,然后用2 mL含2%氨水的乙酸乙酯洗脱。洗脱液在氮气流下吹至0.5 mL,转移至自动进样瓶中,吹干,加入30 μL BSTFA,85℃ 30 min衍生化。

免疫亲和提取

3 mL尿样离心后与LSD免疫亲和树脂一起培养,然后清洗树脂,用甲醇洗脱出结合药物。洗脱液60℃氮气流下吹干,残余物加入150 μL流动相,供HPLC分析。

毛发提取

毛发用0.1%十二烷基磺酸钠(SDS)和水各洗3次，晾干后剪成2～3 mm段。称取20 mg毛发，加入2 mL甲醇∶5 mol/L HCl(20∶1)，超声1 h，室温中放置14 h。甲醇液经过滤，用28% NH_4OH调碱性，挥干。残余物用二氯甲烷和0.1 mol/L NaOH提取，提取液挥干后加入30 μL BSTFA，90℃加热1 h，冷却后直接进样。

二、检测方法

体内外检材的LSD分析一般均采用仪器分析。

生物检材的LSD分析非常困难，这是由于LSD在很小剂量(25～150 μg)下即可发挥很强的作用。LSD消除半衰期短(3.6 h)，进入体内后很快代谢，通过*N*-去甲基化，*N*-去乙基化和羟化成无活性的代谢物。仅有小于1%的LSD以原体排泄，因而尿样中原药的检测时限很短(12～22 h)。提高检测灵敏度是LSD分析的关键，目前所用分析方法包括HPLC-FLD、LC-MS、LC-MS-MS、GC、GC-MS、GC-MS-MS等。

1. 液相色谱/质谱联用法　液相色谱/质谱联用参考条件：

色谱柱：Eclipse ® XDB-C_{18}柱
流动相：含50 mmol/L醋酸铵的0.02%三乙胺的缓冲液(pH 8.0)和乙腈
流速：缓冲液-乙腈(79∶21)，0.8 mL/min(8 min)0.5 min缓冲液-乙腈(57∶43)
检测器：API MS，API喷雾温度为425℃
碎片离子：LSD *m/z* 324，OH-LSD *m/z* 356，338，237
最低检测限：OH-LSD 400 pg/mL

2. 气相色谱/质谱联用法　气相色谱/质谱联用参考条件：

色谱柱：ZB-5柱(15 m×0.25 mm)
柱温：175℃(0.8 min)20℃/min 298℃
检测器：MS/MS/PCI
碎片离子：LSD-TMS *m/z* 396⇒295
OH-LSD-2TMS *m/z* 500⇒309
最低检测限：LSD和OH-LSD均为10 pg/mL

第五节　可卡因

可卡因(cocaine，COC)又名古柯碱，是1860年首次从南美洲古柯植物的叶片中提炼出来的生物碱，古柯叶中可卡因的含量为0.6%～1.8%。现已有人工合成的可卡因。

可卡因制剂的性状因产地、制备工艺、销售渠道等不同而有较大差异。常见的可卡因类毒品有以下三类：

(1) 古柯叶和古柯茶　主要用于咀嚼和沏茶，可卡因含量一般在0.5%～1%。

(2) 古柯膏　又称粗制可卡因，是古柯叶的提取物，其中游离古柯碱在80%以上。外观呈奶白色或米白色粉末，有特殊气味。

(3) 可卡因　将古柯膏进一步处理并制成生物碱的盐，即成为可卡因毒品。将盐酸可卡因溶于水，调成碱性析出的沉淀物即为可卡因游离碱，美国称“克赖克”(CRACK)。

可卡因属中枢神经系统精神运动兴奋剂，具有中枢神经系统兴奋作用、心血管系统毒性作用、血管收缩作用、局部麻醉作用、升高体温和抑制食欲作用。作用强弱与使用剂量和途径、个体可卡因代谢状况及既往用药情况有关。大剂量滥用可卡因后常出现觉醒度过高和过度警觉，重者可出现类似精神分裂症的疑心和关系妄想。同时常伴有不同程

度的刻板动作、固定妄想和自知力丧失。依滥用剂量的不同还可出现听觉过敏和零散的幻听，有时还可出现注意力障碍和思维障碍等类躁狂症的表现。

可卡因易通过各种途径吸收入体，消除快，半衰期不长于 35 min。可卡因在体内的主要代谢途径是水解，形成苯甲酰爱康宁(BZE)、爱康宁甲酯(EME)和少量的爱康宁。它们的半衰期均较可卡因长，其中 EME 的半衰期为 4 h，而 BZE 的半衰期则将近 6 h。

可卡因在体内分布广泛，其中在法医毒物分析中有价值的是：

脑：可卡因可自由通过血脑屏障，末次吸毒后 24 h 仍可在脑中发现可卡因。可卡因中毒死亡病例的尸解研究发现人脑中可卡因浓度是血浓度的 4 倍左右。

肝脏：肝脏中含有高密度的可卡因受体，可卡因静注后大约 20%的可卡因进入肝脏，10～15 min 达到摄取峰值。可卡因中毒死亡病例尸解发现肝脏中可卡因和 BZE 浓度高于血浓度。

唾液：唾液中可卡因浓度与血浆浓度间呈现良好的相关性，且与行为和生理作用呈正相关。可卡因在唾液中的清除率与血浆相同，半衰期均为 35 min，注射可卡因 4 h 后唾液中可卡因浓度降至微量不易检出，故而在唾液中发现可卡因提示短时间内使用过可卡因。

母乳：可卡因可通过乳汁进入婴儿体内，乳汁中可卡因浓度高于脑和肝脏，且是血浓度的 8 倍。

尿液：可卡因在尿液中 80%以代谢物 BZE 和 EME 的形式存在，仅极少可卡因以原形排出。

毛发：毛发可从血液中摄取可卡因及其代谢物，在可卡因滥用者的毛发中可测得可卡因、BZE、EME 等；其中可卡因浓度最高。

一、检材处理

成分简单的体外检材，如可卡因盐、游离可卡因碱、药物制剂等，可直接取用有机溶剂溶解后供试。古柯叶、古柯茶或古柯膏等成分较复杂的检材，一般需经提取净化后方可用于检验。即先用稀盐酸或稀硫酸浸泡或振荡，使可卡因与酸成盐而溶；分离出酸水液，调到碱性后，再用氯仿等有机溶剂萃取，挥干，残渣溶解后供检。

可卡因滥用者或急性中毒者多采用血、尿作为检材，如为可卡因中毒死亡者则可采取血、肝、脑、尿、胆汁等。由于可卡因及其代谢物结构中的酯键在碱性和高温条件下易水解，故可卡因中毒检材需在低温和弱酸性条件下保存。如液体检材可用 10%醋酸生理盐水调节 pH 为 5，然后冷冻保存。

毛发分析可提供毒品使用的长程信息，当鉴定需求超过体液样品检出时限或需要判断吸毒史时，可选取头发为检材。需注意的是用毛发分析结果确认可卡因滥用时，应同时有可卡因代谢物阳性结果的支持。

血、尿、唾液等体液检材可用弱碱调至 pH 8.5～8.7 后，用二氯甲烷、醋酸乙酯、乙醚、己烷等有机溶剂或氯仿-异丙醇(9∶1)、二氯甲烷-异丙醇(4∶1)等混合溶剂直接提取，也可用缓冲液调至适当 pH 后，直接用固相柱提取净化。可卡因代谢物与可卡因的酸碱性差异较大，用液液法提取时，不能同时顾及原体及代谢物，而固相提取法则能同时提取可卡因原体及代谢物。毛发应经酸水解或酶水解后再进行提取净化。

检材处理方法示例：

取体液 1 mL，加入内标和 2 mL 磷酸盐缓冲液(pH＝6.0)-甲醇(80∶20)，混旋，离心。上清层至另一离心管中，用磷酸盐调 pH 为 6.0 左右，上活化好的固相小柱(Bond Elut Certify，2 mL 甲醇和 2 mL磷酸盐缓冲液洗柱，活化)，待样品液流完后，用 2 mL 水、2 mL 0.1 mol/L HCl、2 mL 甲醇淋洗，并分别用抽真空或离心的

方法除去柱中的水、酸和乙腈，然后用含2%氢氧化铵的甲醇 2 mL 洗脱，收集洗脱液于尖底离心管中，在 40℃ 氮气流下吹干溶剂，溶解后供 HPLC 分析可卡因及代谢物 BZE 等。或用 BSTFA+TMCS 70℃ 加热 30 min，供 GC 或 GC－MS 分析可卡因及代谢物。

二、检测方法

1. 毒品鉴定

(1) 改良硫氰酸钴反应(Scott 试验) 取可疑毒品或提取液适量于试管中，滴加硫氰酸钴试剂，振摇数秒后出现蓝色，可能含可卡因(苯环己哌啶、安眠酮等药物也能显蓝色)。进一步鉴别方法：于蓝色溶液中，滴加浓盐酸并振摇，如为可卡因，则蓝色消退，溶液呈粉红色；再于粉红色溶液中，加几滴氯仿振摇萃取，若氯仿层显深蓝色，可进一步证明可卡因的存在。

(2) 薄层色谱法 吸附剂一般用硅胶 G 或硅胶 GF_{254}；展开剂中可加入少量碱调节 pH，以避免样品斑点拖尾，常用展开剂有甲醇-浓氨水(100 : 1.5)、氯仿-二氧六环-醋酸乙酯-浓氨水(25 : 60 : 10 : 5)、醋酸乙酯-苯-浓氨水(60 : 35 : 5)、环己烷-甲苯-二乙胺(75 : 15 : 10)等。显色剂可用改良碘化铋钾、酸性碘铂酸钾等生物碱沉淀试剂，可卡因与前者显橙红色，与后者显蓝色。

可卡因及同系物的进一步鉴别或确证可用 HPLC、GC、GC－MS 等仪器分析方法。

2. 免疫分析 取尿液 3 滴于可卡因免疫板的反应孔中，静置 3～5 min，质控区出现紫红色带为阳性；质控区和测试区均出现紫红色带为阴性。免疫分析的检测限为 300 ng/mL。

3. 仪器分析

(1) 高效液相色谱法 高效液相色谱法可同时分离分析可卡因及 BZE 等极性代谢物，样品处理较为简单，且有较高的灵敏度。

HPLC 分析参考条件：

Ⅰ. 色谱柱：Supelosil ABZ 250 mm×2.1 mm i. d. 反相柱；流动相：甲醇－乙腈－50 mmol/L 磷酸铵溶液(5 : 7 : 63)；紫外检测器：检测波长 195 nm。

Ⅱ. 色谱柱：Lichrosorb C_{18} 250 mm×4.6 mm i. d. 反相柱；流动相：0.025 mol/L 磷酸盐缓冲液－乙腈－丁胺(80 : 18 : 1，pH 3.0)；紫外检测器：检测波长 230 nm。

检出限：1～5 ng/mL 尿；10～30 ng/mL 血。

(2) 气相色谱/质谱联用法 可卡因主要代谢物苯甲酰爱康宁和爱康宁甲酯的结构中分别含有羧基和羟基，分析前必须先行衍生化(一般采用硅烷化)处理。分析参考条件：

色谱柱：HP－5、HP－1 类毛细管柱；程序升温使可卡因和苯甲酰爱康宁、爱康宁甲酯代谢物很好分离；质谱选择离子监测方式检测(表 10－4)。

表 10－4 可卡因及其代谢物的 TMS 衍生物的特征碎片

出峰顺序	TMS 衍生化物	特征碎片(m/z)
1	爱康宁甲基酯(EME)	82,96,271
2	爱康宁乙基酯(EEE)	82,96,285
3	可卡因(COC),原体	182,272,303
4	古柯乙烯(CE),原体	82,196,317
5	苯甲酰爱康宁(BZE)	82,240,361
6	去甲可卡因(NCOC)	140,240,346

最低检出限：

体液：COC 2 ng/mL；BZE、CE 1 ng/mL

毛发：COC、CE、BZE 0.2 ng/mg。

生物检材中可卡因和代谢物的相对含量及检测时限见表 10－5。

表 10－5　生物样品中可卡因和代谢物的相对含量及检测时限

生物样品	血　清	唾　液	尿　液	汗　液	胎　粪	毛　发
相对含量	高	低	高	低	高/低	低
主要成分	BZE＞COC＞EME	COC＞BZE＞EME	BZE＝EME＞COC	COC＞BZE＝EME	HBZE＝BZE＞EME	COC＞BZE＞EME
时间周期	短	短	累积	累积	累积	累积
检出时限	0.5～1 天	0.5～1 天	2～3 天	数周	数月	数月至数年

第六节　苯丙胺类

苯丙胺类兴奋剂(amphetamine-type stimulants，ATS)是苯丙胺及其衍生物的统称，具有药物依赖性(主要是精神依赖性)、中枢神经兴奋、致幻和食欲抑制等药理、毒理学特性，是联合国精神药品公约管制的精神活性物质。19 世纪末 20 世纪初，日本科学家首先合成了苯丙胺和甲基苯丙胺，而后又合成了一系列苯丙胺类的支链取代和环取代衍生物。第二次世界大战后，日本、欧洲、美国先后爆发了苯丙胺类滥用大流行。直至 20 世纪 70 年代，联合国对苯丙胺类施行管制措施和立法(《1971 年精神药物公约》)，流行趋势才有所缓和，但全球范围内的滥用问题一直没有解决。

苯丙胺类兴奋剂均具有中枢神经系统兴奋作用，但不同药物的作用各有侧重，根据苯丙胺类兴奋剂的化学结构的不同和药理、毒理学特性，可分为以下四类：

1. 兴奋型苯丙胺类　以中枢神经系统兴奋作用为主，其结构特征是苯丙胺母体化合物类，如苯丙胺、甲基苯丙胺等。

2. 致幻型苯丙胺类　具有导致用药者产生幻觉的作用，其结构特征为苯环甲氧基取代苯丙胺衍生物，如二甲氧基苯丙胺、麦司卡林等。

3. 抑制食欲型苯丙胺类　具有抑制食欲作用，其结构特征为支链取代或苯环非甲氧基取代苯丙胺衍生物，如苯丁胺、氟苯丙胺等。

4. 混合型苯丙胺类　兼具兴奋和致幻作用，其结构特征为苯环亚甲二氧基取代苯丙胺衍生物，如 MDMA、MDA 等。

表 10－6 列出了常见的苯丙胺类化合物。

表 10－6　常见苯丙胺类化合物

英　文　名	中　文　名	主要作用
Amphetamine(AMP)	苯丙胺	中枢兴奋
Methamphetamine(MAMP)	甲基苯丙胺	中枢兴奋
Fenfluramine	氟苯丙胺	食欲抑制
Diethylpropion	二乙基苯丙酮	食欲抑制
Phentermine	苯丁胺	食欲抑制
Methylphenidate	哌醋甲酯(利他林)	中枢兴奋
MDA	3,4－亚甲基二氧基安非他明	致幻、兴奋
MDMA	3,4－亚甲基二氧基甲基安非他明	致幻、兴奋
MMDA	3－甲氧基－4,5－亚甲二氧基安非他明	致幻
MDEA	N－乙基－3,4－亚甲二氧基苯丙胺	兴奋、致幻
MBDB	N－甲基－1－(3,4－亚甲二氧基苯)－2－丁胺	兴奋、致幻

续表

英文名	中文名	主要作用
DMA	二甲氧基苯丙胺	致幻
TMA	三甲氧基安非他明	兴奋、致幻
PMA	副甲氧基安非他明	兴奋、致幻
DOB	4-溴-2,5-二甲氧基苯丙胺	致幻
DOMA	2,5-二甲氧基甲基苯丙胺	致幻
DOET	2,5-二甲氧基-4-乙基安非他明	致幻

苯丙胺类毒品多以各色片剂(也有胶囊)形式出现(图 10-5),形状和图案已多达 200 多种。

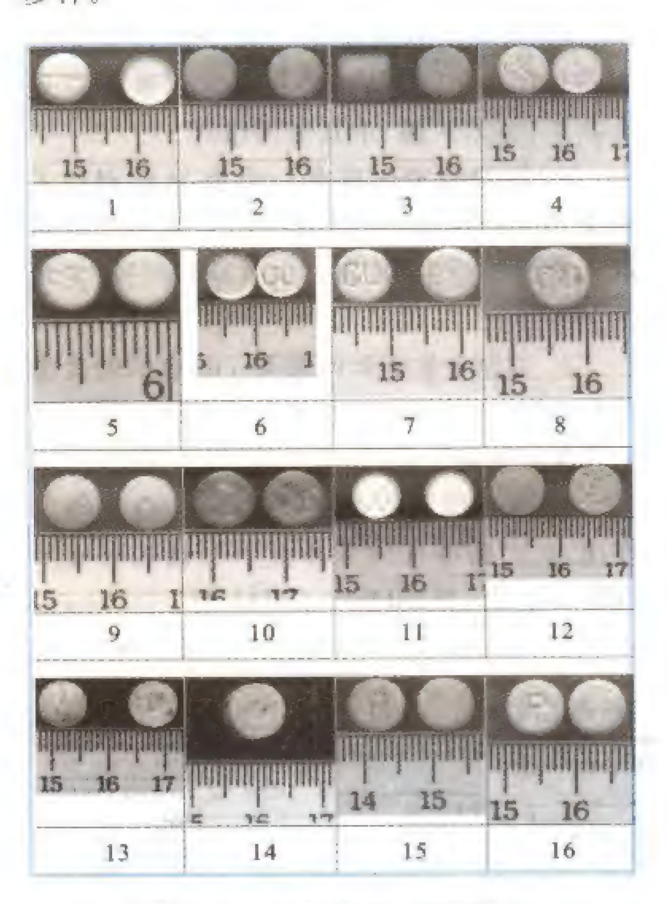


图 10-5　苯丙胺类兴奋剂药片

苯丙胺类的滥用方式主要为口服,偶有鼻吸和注射。苯丙胺类的滥用分为两类:一是不规律的间断使用。该类滥用者一般仅在舞厅等特殊的环境或场合下使用苯丙胺类,其目的是享乐,追求使用苯丙胺类后的舒适和"飘"的感受。二是习惯性滥用。目前我国以前者为多,常见滥用苯丙胺类化合物为苯丙胺、甲基苯丙胺、MDMA、MDA 等。

苯丙胺类兴奋剂是否形成躯体依赖尚无定论,但戒断症状即使短期使用也会出现,其表现为:抑郁情绪、行动缓慢、动作拘泥仔细、刻板动作、疲乏无力、嗜睡或多梦、饥饿感和再次使用兴奋剂的渴求。戒断症状的彻底消失需要数周、数月甚至数年,记忆缺失和混乱、感知觉障碍和偏执观念等思维障碍可能会持续数年甚至终身。

苯丙胺类入体后吸收良好,通过血液迅速分布于组织。甲基苯丙胺主要代谢为 4-羟基甲基苯丙胺和苯丙胺,然后苯丙胺又代谢为 4-羟基苯丙胺、4-羟基去甲麻黄素和去甲麻黄素。环取代苯丙胺 MDMA 在体内的主要代谢途径为支链的 N-去烷基(MDA)、脱氨和氧化等。

苯丙胺类主要经尿排泄,尿 pH 对苯丙胺类以及代谢物的分布和排泄有很大的影响,酸性尿使原体药物的排出量增加;在碱性尿条件下,因肾重吸收药物而使药物在体内的半衰期延长,自然条件下为 12 h。大剂量用药后,检出时限可长达 5~7 天。

一、检材处理

苯丙胺类检验的检材分为体外检材和体内检材。体外检材多见为各种形状、图案、颜色的药片制剂,也有粉末、水剂。体外检材经甲醇、乙酸乙酯等有机溶剂溶解、稀释后,即可用各种方法检验。

体内检材以尿和毛发等活体检材为主。

尿样是疑苯丙胺类滥用检验的首选检材，尿中苯丙胺类原体和代谢物含量高，并主要以游离形式存在。尿样无需水解，可直接在碱性条件下用氯仿、环己烷、乙酸乙酯等有机溶剂提取或固相提取；而尿中少量的羟基代谢物则以葡萄糖醛酸/硫酸苷形式存在，需先行水解后以极性较大的乙酸乙酯或氯仿提取。

在尿液检材不能提供或摄毒后间隔较长时间的情况下，选取毛发检材包括头发、体毛极有价值。头发药物分析结果可提供苯丙胺类滥用或慢性中毒的有力证据。

苯丙胺类阳性头发可用酸水解法、碱水解法、酶水解法和甲醇超声提取法处理，衍生化后用质谱选择离子法检测。

血液毒品浓度可反映甲基苯丙胺类滥用程度及毒作用强度，也是法医鉴定中判断是否毒品中毒致死的有力证据。由于血液药物含量相对较低，一般均需衍生化后用质谱选择离子法检测。

检材处理方法示例：

取尿样 2 mL，置 5 mL 具塞离心管中，添加内标。尿样经 10%的氢氧化钠溶液调 pH 大于 11 后，用乙酸乙酯 2 mL×2 混旋提取，合并提取液于另一离心管中，加一滴酸性甲醇（甲醇-盐酸 20∶1），在 50℃水浴中用氮气流吹干供检。

衍生化：提出物中加乙酸乙酯 25 μL，TFA 25 μL，用封口膜密封，于 60℃保温 30 min 或置微波炉中 450 W 加热 2 min，冷却后用氮气流吹干，乙酸乙酯定容供检。

二、检测方法

1. 毒品鉴定

（1）甲醛-浓硫酸反应（Marquis test） 取少量检材粉状物或 1～2 滴液体检材置反应板上，加甲醛-浓硫酸试剂 1～2 滴，观察颜色：苯丙胺、甲基苯丙胺显橙色；MDA、MDMA 显蓝紫色；麻黄素类呈黄绿色-褐色。

本反应检测限一般为 1 μg，麻黄素类灵敏度较低。

（2）乙醛-亚硝基铁氰化钠（硝普钠）反应（Simon's test） 取少量检样于小试管中，依次加入 20%碳酸钠溶液、1%硝普钠溶液、50%的乙醛乙醇溶液各 1～2 滴，振摇小试管。有甲基苯丙胺或 MDMA 等仲胺，则出现深蓝色，而伯胺苯丙胺、MDA 等则慢慢出现粉红至樱红色。本反应可用来区别伯胺和仲胺，但灵敏度较低。

（3）薄层色谱法 以硅胶 G 为吸附剂，用碱性展开剂，如甲醇-浓氨水（100∶1.5）或环己烷-甲苯-二乙胺（75∶15∶10）等展开；显色剂可用甲醛-硫酸或碘化铋钾、碘铂酸钾等生物碱沉淀剂。

2. 免疫分析 取尿液 3 滴于甲基苯丙胺或 MDMA 免疫板的反应孔中，静置 3～5 min，观察结果：

（1）阳性 仅质控区出现紫红色带。

（2）阴性 质控区和测试区均出现紫红色带。

（3）无效 质控区未出现紫红色带。

目前所用苯丙胺类免疫板的检测限为 500 ng/mL，灵敏度不高，其阴性结果应用仪器进一步确证分析。

3. 仪器分析

（1）气相色谱法 气相色谱法是分析苯丙胺类最常用的方法。色谱柱可用 HP－5、DB－1、Ultra－2 类毛细管柱，采用程序升温可使苯丙胺类很好分离；检测器一般为 NPD 或 ECD（PFPA 或 HFBA 衍生化）；衍生化可大大提高灵敏度，最低检出限达 5～20 ng/mL 血或尿。参考色谱图见图 10－6。

（2）高效液相色谱法 HPLC 法分析苯丙胺类和极性代谢物的优点是样品无需衍生化，但紫外检测器灵敏度低，很难应用于体内苯丙胺类分析，而荧光和化学发光检测器的检出限可低至 pg 级，有良好的应用前景。

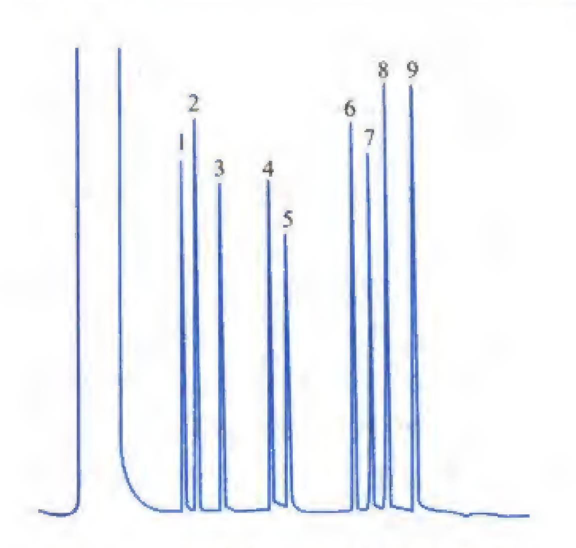


图 10-6 苯丙胺类药物的色谱分离图

1. AMP；2. MAMP；3. 氟苯丙胺；4. 内标；5. 氟苯丙胺；6. MDA；7. MDMA；8. MDE；9. MDPA

HPLC 分析参考条件：

色谱柱：ODS 250 mm×4.6 mm i.d. 柱

流动相：1 mmol/L 咪唑缓冲液(pH 7)-乙腈(40∶60)

流速：1 mL/min

检测器：化学发光检测器

检测限：2 pg

(3) 色谱/质谱联用法　色谱/质谱联用法可同时完成苯丙胺类的筛选和确证分析，是体内外苯丙胺类毒品以及代谢物鉴定的最有效方法。

色谱/质谱联用法选择苯丙胺类分子离子、基峰离子和丰度较大的特征离子，以各离子的相对丰度比作为定性依据；以被测物特征离子的峰面积与内标特征离子的峰面积之比进行定量分析。

多种滥用药物共存是苯丙胺类滥用的特点之一，在分析检测中尤应引起注意。

案例：

某公安局发现某舞厅十几名舞客摇头不止，兴奋异常，并发现现场有可疑药片，故委托查明是否使用"摇头丸"类，并判明是偶尔使用还是经常滥用。

违禁苯丙胺类滥用的综合评断：

第一步：采集嫌疑人尿样，经分析其中 7 份尿样中含有 MDMA 成分，其他尿样中则含有麻黄碱和可待因成分，与其自述服用"联邦止咳露"情况相符(大量饮用"联邦止咳露"也有兴奋作用)。

尿样中检出 MDMA 成分，表明被检者在 5～7 天内曾服用过该类毒品，但仅根据此结果尚不能判断其是否经常使用苯丙胺类毒品，而头发检测结果则能提供毒品使用的长程信息(时间和历史)。

第二步：采集 7 名尿液阳性者头顶部贴根 1 cm 头发，按样品处理方法操作，GC-SIM 法测定，结果在 6 名尿液阳性者头发中检出了 MDMA 和代谢物 MDA 成分(表 10-7)，其中原形浓度高于代谢物浓度，其比值为 8～15.4。

表 10-7　MDMA 滥用者毛发中 MDMA 及代谢物 MDA 含量

No	MDMA/(ng/mg)	MDA/(ng/mg)	MDMA/MDA
1	21.9	2.3	9.5
2	7.7	0.5	15.4
3	15.9	2.0	8
4	2.4	0.2	12
5	—	—	
6	13.2	0.9	14.7
7	19.6	1.7	11.9

头发分析结果表明：No. 1～4 和 No. 6～7 名舞客在最近 1 个月内(头发生长速率为 1～1.2 cm/个月)经常使用 MDMA 毒品，而 No. 5 舞客则为最近 2 天内使用，其使用量和使用时间均未到达足以在头发中得到表现。高的药物原形浓度则表明滥用者间歇性使用(上舞厅时使用)这类药物。

第七节　哌替啶

哌替啶(pethidine)又名度冷丁(dolan-

tin)，为人工合成的麻醉镇静剂。哌替啶具有与吗啡相似的基本结构和性质，其分子符合阿片受体的空间结构，也是作用于阿片受体。

哌替啶具有显著的成瘾性，哌替啶滥用者出现的戒断症状与吗啡相同，但戒断症状持续时间比吗啡短。戒断症约在停药后 3 h 出现，8～12 h 达高峰。症状有严重的肌肉抽动、烦躁不安、流泪、流鼻涕、流汗、哈欠、瞳孔散大等。

哌替啶致死剂量为 1 g，成瘾者每日用量可达 3～4 g。

哌替啶口服吸收较慢，存在首过效应，生物利用度约为 55%。而肌注只需几分钟便可发生作用，吸收后 40% 与血浆蛋白结合，除小部分(5%)以原形自肾脏排出外，大部分在肝中代谢。哌替啶在体内的主要代谢途径为 *N*-去甲基和酯的水解，然后进一步形成葡萄糖醛酸结合物。哌替啶的排泄受尿 pH 的影响，在酸度大的尿中，24 h 原形排出量可增至 30%，而在偏碱性的尿中，仅为 5%。

由于哌替啶在体内的代谢快而全，因此哌替啶代谢物的鉴定对于推断是否摄取哌替啶具有十分重要的意义。在诸多的代谢产物中，去甲哌替啶和乙酰去甲哌替啶尤为重要。

哌替啶既是国内吸毒者主要滥用的毒品之一，也是临床常用的镇痛剂，因此法庭科学工作者常常面临的问题是当尿样毒品分析获得阳性结果时，如何判断是偶尔使用还是长期滥用。科学研究结果表明，不同使用方式可致体内哌替啶以及代谢物浓度存在显著差异。哌替啶滥用者由于在短时间内多次摄取毒品，导致代谢物在体内产生蓄积，故摄毒者具有较高的代谢物去甲哌替啶浓度和较高的代谢物与原形的浓度比，可以作为判断是否滥用哌替啶的参考依据。

哌替啶进入毛发后，稳定地存在于其中而不再发生变化。对一有 6 年哌替啶滥用史的女性的 24 cm 长的毛发进行分段分析，结果在每一段毛发中均检出哌替啶及其代谢物，检出时限至少为药后 20 个月。

一、检材处理

哌替啶的体外检材为医疗针剂；体内检材主要为尿液和毛发。体内检材处理应注意以下问题：

(1) 哌替啶的代谢物在体内大多以糖苷的形式存在，故提取前先行水解，可使其浓度提高 2～4 倍，大大增加了可检出率。通常采用酸水解法。

(2) 主要代谢产物去甲哌替啶的色谱行为不佳，在浓度低时，表现为小宽峰，难以认定和定量，故需用 AC、TFA 或 PFPA 衍生化。

(3) 头发可采用酸水解法处理。酸水解具有很高的回收率，达 80% 以上，且提出物洁净，GC－NPD 分析时不受杂质干扰。

尿液或血液的提取：在尿液或血液中加入内标后，用 5% NaOH 调 pH 为 11，加乙醚或二氯甲烷 2 mL×2 混旋，离心、提取。提取物吹干后加入乙酰化试剂衍生化，供分析哌替啶以及代谢物去甲哌替啶。

> 毛发检材处理方法示例：
>
> 头发样品分别用 0.1% 十二烷基磺酸钠(SDS)、0.1% 洗洁净、丙酮振荡洗涤一次，晾干后剪成约 3～4 mm 长的小段。
>
> 取剪细的头发 5～10 mg，添加 d-哌替啶为内标。加入 0.1 mol/L 稀盐酸溶液 1 mL，在 45℃ 水浴中保温 18 h。取出后调 pH 约为 11，用乙醚 2 mL×2 混旋提取；或上 Bond Elut 小柱，用 2 mL 含 2% NH_4OH 的二氯甲烷-异丙醇(80 : 20)混合溶剂洗脱。提取液或洗脱液转移至另一离心管中，45℃ 下氮气吹干，加入 50 μL 醋酸酐-吡啶(3 : 2)混合衍生化试剂于 60℃ 衍生化 30 min 或微波衍生化，供检。

二、检测方法

气相色谱法/气质联用法分析参考条件：

1. 色谱柱 HP－1 15 m×0.2 mm 柱；柱温：100℃→15℃/min→310℃(5 min)

AC－5 15 m×0.2 mm 柱；柱温：150 (1 min)→10℃/min→280℃

2. 检测器 NPD 或 MSD。

3. SIM 法定量分析常用选择离子见表 10－8。

表 10－8 哌替啶、去甲哌替啶各衍生物的常用选择离子

化合物	衍生化	选择离子(m/z)
哌替啶		247,172
去甲哌替啶		233,158
去甲哌替啶	乙酰化	187,275
去甲哌替啶	三氟乙酰化	143,241,329
去甲哌替啶	五氟丙酰化	143,291,379

4. 检测限 尿：1 ng/mL；血：2 ng/mL；组织：10 ng/g；头发：0.2 ng/mg。

对哌替啶滥用者进行毛发分段分析，按 1.2 cm/个月的毛发生长速率，根据药物在毛干中的分布可推测哌替啶滥用史。

> 案例：
>
> G 毛发长 22 cm，约能反映 18 个月的毛发生长期的摄药情况。G 采样前 10 个月滥用哌替啶，前 11 个至前 13 个月于戒毒所戒毒，前 14 个月至前 15 个月中滥用少量哌替啶。将毛发自根部起 3 cm 一段，分成 5 段；余下的按 1 cm 一段分成 7 段。结果在第 1～4 段(1～12 cm)中检出高浓度哌替啶和去甲哌替啶；在第 5 段(13～15 cm)中检出极微量哌替啶；在第 6～7(16～17 cm)段中检出少量哌替啶和代谢产物；在第 8～12(18～22 cm)段中未检出哌替啶(图 10－7)。

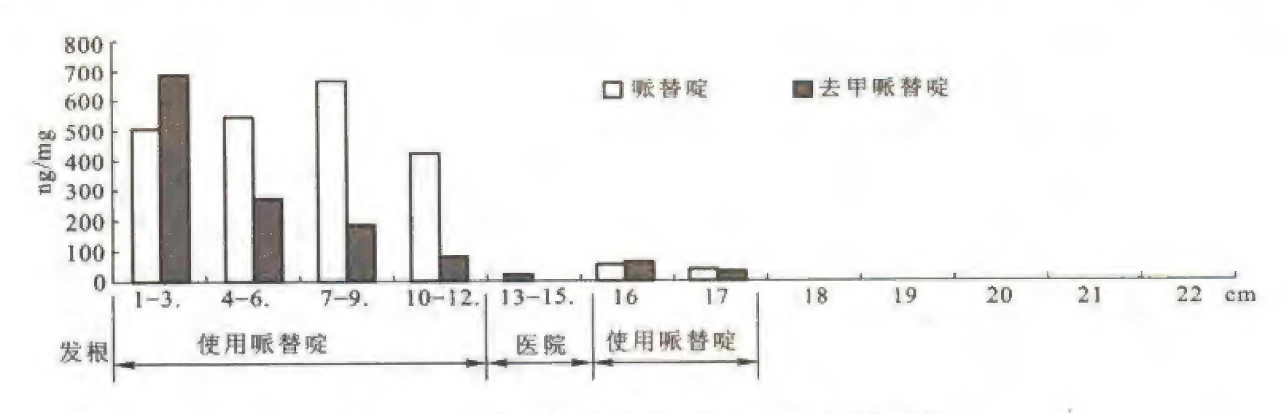


图 10－7 哌替啶在毛干中的分布和哌替啶滥用史

第八节 美沙酮

美沙酮(Methadone)，为人工合成的麻醉性镇痛剂。美沙酮因分子中有不对称碳原子而具有光学活性。虽然其结构与吗啡相差较大，但作用机制与吗啡相似，均为阿片受体的弱激动剂。美沙酮效力可与吗啡匹敌，作用起效慢，持续时间长，适用于慢性疼痛，对急性疼痛效力较差。美沙酮主要用于阿片类依赖的替代、脱瘾治疗。

美沙酮不良反应与吗啡相同，呼吸抑制效应大于吗啡，使用大剂量毒性与吗啡相似。对胎儿呼吸有抑制作用，故在产前不宜用，呼吸中枢功能不全者及幼儿禁用。美沙酮久用也能产生依赖性，凡成瘾时间不长，依赖程度不深，吸毒剂量较小、间隔时间较长的阿片类药物依赖者，一般不使用美沙酮替代治疗。美沙酮用量过大可引起中毒，主要症状有头痛、眩晕、恶心、出汗、嗜睡等。

美沙酮易于从各种途径吸收入体，约

85%与血浆蛋白结合。美沙酮在肝、肺、肾、脾内药物浓度最高，仅有一部分入脑。一次使用美沙酮其半衰期为10～25 h，平均15 h。长期用药者半衰期13～55 h，平均30 h。

美沙酮的生物转化主要在肝脏内进行，其次是在小肠黏膜和肺。美沙酮的主要代谢途径是*N*-去甲基及环化作用，形成吡咯烷(EDDP)和吡咯啉(EMDP)。美沙酮大部分以代谢物形式经尿和粪便排出体外，排出的原体一般为剂量的10%，尿酸化时排出量增加。经肾排出的美沙酮及其代谢物绝大部分呈非结合状态。母亲使用美沙酮的也可在新生儿粪便中检出美沙酮和EDDP。

一、检材处理

美沙酮检验主要是体内检材，根据鉴定要求，可首选尿液或毛发。美沙酮能稳定地存在于生物检材中，美沙酮阳性血、尿、肝脏组织在室温下短期保存及反复冻融，美沙酮和代谢物浓度无明显变化。

美沙酮体内检材处理有以下特点：

(1) 用于吗啡的样品处理方法和含醇的混合溶剂也适合于美沙酮，回收率一般大于85%。

(2) 美沙酮及其代谢物结构中不存在活性基团，无需衍生化。

二、检测方法

1. 气相色谱法　GC分析参考条件同吗啡。

2. 高效液相色谱法　HPLC的手性柱可很好地分离美沙酮的R、S光学活性体，并进行定量分析。美沙酮及其代谢物在HPLC法中的保留时间次序为：EDDP＜EMDP＜美沙酮；R活性体＜S活性体。

HPLC分析参考条件：
色谱柱：C_{18} 150 mm×4.6 mm i.d.反相柱
流动相：乙腈：0.08%二乙胺磷酸水溶液(35：65，pH 2.3)；流速1.5 mL/min
紫外检测器：检测波长210 nm
检测限：0.25 ng/mL

3. 气相色谱/质谱联用法　美沙酮的EI质谱基峰离子*m/z*为72，特征性较差，分析干扰较大，采用化学电离质谱可获得高质量碎片离子，选择性好，干扰少。

PCI质谱分析参考条件：
GC：HP-1 15 m×0.2 mm柱
柱温：100℃→15℃/min→310℃(5 min)
MS：PCI源，240eV，源温200℃
反应气　甲烷：氨＝4：1

美沙酮、EDDP和EMDP的MH^+特征离子分别为310，278，264。

GC-MS最低检出限：血、尿5 ng/mL；毛发0.5 ng/mg。

小结

阿片类(鸦片、海洛因、哌替啶、美沙酮等)抑制剂，可卡因、苯丙胺类等兴奋剂以及大麻、LSD等致幻剂是目前国内最为常见的毒品。除了毒品鉴定外，体内毒品分析样品的选择取决于分析的目的。尿液因其毒品含量高且能检出代谢物而成为筛选和确证分析的首选检材。毛发则因检出时限长、药物原体含量高、可提供长程信息的特点而具有特殊的证据作用。毒品分析一般采用化学反应、免疫分析进行快速筛选，应用灵敏、可靠的色谱/质谱联用技术进行确证分析。

Summary

In this chapter, the methods for analysis of the most frequently abused illicit drugs are covered, for example, opiates (heroin, morphine, meperidine and methadone), cannabinoids, LSD, cocaine and amphetamines. Besides illicit agents in the case, the selection of biological specimens depends on many aspects. Urine is usually the first choice of sample for screening and identification of drugs, as the concentrations of drugs are relative high in urine. However, the metabolites of the drugs had to be identified in addition. Hair also is specimen of interest as hair could offer larger detection window, evidence of drug'intake and long-term information of drug use history. So hair analysis can bring very useful information that no other sample could. For screening, usually chemical test and immunoassays are used to differentiate between negative and presumably positive samples. Positive results must be confirmed by a second independent method that is at least as sensitive as the screening test and provides the highest level of confidence in the result. GC - MS and HPLC - MS are the most widely used methods for confirmation of positive screening test.

思考题

1. 与一般毒物分析相比，体内毒品分析的检材及其处理有哪些特点？
2. 了解毒品的体内代谢对体内毒品分析有何意义？
3. 毛发分析有何特点？一般在何种情况下使用？
4. 某案件尿样用吗啡免疫板筛选得阳性结果，进一步用 GC - MS 法确证分析，证明该尿样中存在吗啡成分，此时是否可确认被检者摄人海洛因或吸食鸦片？为什么？你考虑如何进一步检验？
5. 某案件同时取尿样和毛发进行毒品分析，得到相反的结果，你如何评价此结果？
6. 某实验室对某可疑吸食大麻者的尿样和毛发进行 GC - MS 分析，并报告结果：尿样和毛发中均未检出四氢大麻酚、大麻二酚和大麻酚成分。你如何评价此结果？
7. 怀疑某死者生前吸毒，尸体解剖时采取胃内容物和血液检验常见毒品，分析结果阴性，故可排除死者近两天内吸食毒品。你如何评价此结果？

（司法部司法鉴定科学技术研究所　沈敏）

第十一章　金属毒物

要　点	
概要	砷、汞、钡、铬、铊等是常见的金属毒物。金属毒物中毒大都有较明显的中毒表现，与其他毒物检材前处理方式截然不同的是金属毒物要经过有机质破坏，除去有机质而留下要检测的金属。金属毒物的检验特点之一是对长久保存、已经腐败或经防腐处理过的检材等均可进行金属毒物检测。常用的金属毒物分析方法是原子吸收分光光度法。
金属毒物	金属毒物是指能够引起急性中毒的金属单质及其化合物。在这些毒物中，通常无机物比有机物毒性大；易溶解的盐类比难溶盐毒性大；气态的金属毒物比液态和固态的金属毒性大。Reinsch 试验是经典的金属毒物筛选方法，对剩余食物、胃内容物和呕吐物等体外检材，可直接用 Reinsch 试验快速筛选。有机质破坏是对生物检材进行金属毒物检测前的样品前处理过程。它是通过氧化分解或灼烧等方式将检材中的有机物除去而留下被检测的金属。
常见的金属毒物	在常见的金属毒物中砷、汞、钡、铬、铊等化合物是毒性较大、中毒和死亡案例较多的金属毒物。
相关主题词	金属毒物　有机质破坏　Reinsch 试验　Gutzeit 试验　原子吸收分光光度法

第一节　概述

金属毒物（metal toxicant）是指能够引起急性中毒的金属单质及其化合物。在这些毒物中，通常无机物比有机物毒性大；易溶解的盐类比难溶盐毒性大；气态的金属毒物比液态和固态的金属毒性大。在常见的金属毒物中，砷、汞、钡、铬、铊等化合物是毒性较大、中毒和死亡案例涉及较多的金属毒物。

金属毒物的毒性与其分子结构或化合状态有密切关系，但主要毒性作用还是决定于所含的金属元素。例如，无机砷化合物一般都有毒性，砷化氢气体和三氧化二砷的毒性大于其他含砷化合物。在这些毒性较大的金属毒物中只有极少数化合物如硫化砷、硫化汞、硫酸钡等因其溶解度极低而使之成为低毒或无毒。

砷、汞、钡、铬、铊等是常见的金属毒物。金属毒物中毒大都有较明显的中毒表现。在检材处理上含金属毒物的检材需要通过有机质破坏除去有机质留下要检测的金属。这一点与其他毒物的检材处理方式截然不同。金属毒物检验的特点之一是对长久保存、已经腐败或经过防腐处理的各类检材均可进行检测。毒物分析实验室常以 Reinsch 试验快速筛选检材中的砷、汞等金属毒物。对体内检材进行金属离子定量测定时，要注意与体内金属离子的正常含量相区别。金属离子常用

的分析方法是原子吸收分光光度法。

一、金属毒物的特点

（一）检材需经有机质破坏

金属元素进入体内以后能与蛋白质形成牢固的结合物，检测时需要用氧化、分解等方法去除有机物质后再对金属元素进行检测，这一过程称为有机质破坏。未与蛋白质牢固结合的金属毒物，可不经过有机质破坏，而用其他方法提取分离后进行检测。此类情形主要有两种：①多数体外检材，如未经消化的胃内容物、呕吐物、剩余食物等，可用水或稀酸浸提，经离心分离后取上清液检测；②某些特定情况下的体内检材可用有机溶剂萃取等方法提取分离其中的金属毒物。例如某些金属有机毒物在体内的代谢转化较缓慢，在血、尿或组织中如尚有未代谢的原药或小分子的代谢物，可用溶剂萃取等方法提取分离后检测。这对于中毒源的鉴别比较有利。

（二）检测目标物是金属元素

经有机质破坏后最终检测的是金属元素，有时难以鉴别中毒源中毒物的化合状态。由于检材前处理和样品制备过程中金属的化合状态具有可变性，其毒性也有可能相继改变，应予以注意。如本不属于剧毒的金属化合物雄黄（As_2S_2）、朱砂（HgS）等在实施有机质破坏时，有可能被转化为可溶性的金属无机化合物，得到阳性结果；相反毒性较大的 $BaCl_2$ 也有可能转化成无毒的 $BaSO_4$。

（三）金属毒物在检材中稳定

金属元素一般不易挥发和流失，对已经腐败的检材，经蒸馏分离或有机溶剂萃取等方法处理过的剩余检材，已经用40%的甲醛水溶液等防腐剂固定过的检材，甚至开棺提取的腐败尸体的残余物，都可以经有机质破坏后检测金属毒物。砷、汞等多种金属元素在人体内有积蓄，距离中毒时间较长的检材仍具有检测价值；头发、骨骼、指甲等检材的检测结果，还可推断金属毒物的摄入史。与其他毒物检材相比，金属毒物的检材范围更广泛。

（四）需进行对照试验排除干扰

由于金属元素普遍存在于环境之中和生物体内，检测金属毒物时须特别注意进行对照试验，尤其是空白对照试验以排除干扰。当检材为泥土、棺木、衣物、饮食物、器具等物品时，应注意采取相关的空白对照物作参比；在检材的采取、包装、保存、运送及检验全过程中，须注意所用器皿、材料、药品、试剂以及水中可能含有的金属元素，应作空白试验。

（五）区别体内金属正常含量与中毒量

正常人体内可检测到20多种金属元素，其中铍、镍、锑、碲、铊、汞等被认为对人体是有害的；而有人认为微量的砷、硒、铅、镉等元素对人体是有益的；含量较高且为人体所必需的钙、镁、铁、锌、铜等元素，过量也可引起中毒甚至死亡。因此，在生物检材中检测出金属元素，必须区别金属正常含量与中毒量，必要时应作空白试验或阳性对照试验进行验证。

二、Reinsch 试验

Reinsch 试验是经典的金属毒物筛选方法，对剩余食物、胃内容物和呕吐物等体外检材，可直接用 Reinsch 试验快速筛选。但对体内检材均须经过有机质破坏后再进行 Reinsch 试验。

（一）原理——氧化还原反应

在适当酸度的水溶液中，以单质铜为还原剂，可以将一些金属化合物中的金属离子还原成金属单质并沉积于铜表面，并使铜表面呈现出沉积金属的特殊颜色而加以识别。还原电位比铜高的金属化合物均可被铜还原，反之则不能被铜还原。用铜作还原剂可排除还原电位比铜低的各种金属的干扰。检验要求用纯铜，不能用铜的合金如黄铜等，反

应过程中要保持盐酸占总溶液体积的2%～8%，微沸加热约30 min即可。

能被铜还原的金属毒物有砷(As)、汞(Hg)、锑(Sb)、银(Ag)、铋(Bi)、硒(Se)、碲(Te)等化合物，其单质沉积于铜表面所呈现出的颜色分别为：砷呈黑色，汞呈银白色，锑显现灰紫色，银为银白色，铋、硒、碲等皆呈现乌黑色。在法医毒物分析中有较大意义的是砷、汞、锑的化合物。

$$As_2O_3 + 3Cu + 6HCl \longrightarrow 2As\downarrow + 3CuCl_2 + 3H_2O$$

$$Hg^{2+} + Cu \longrightarrow Hg\downarrow + Cu^{2+}$$

$$Hg_2^{2+} + Cu \longrightarrow 2Hg\downarrow + Cu^{2+}$$

$$Sb_2O_3 + 3Cu + 6HCl \longrightarrow 2Sb\downarrow + 3CuCl_2 + 3H_2O$$

五价砷的反应速度较慢，要加入适量酸性氯化亚锡将其还原成三价砷后再进行检测。酸性氯化亚锡还能消除其他氧化性物质的干扰。盐酸浓度过高会与氧化砷反应生成三氯化砷，加热时易挥发损失；盐酸浓度过低时金属化合物不易被还原，故反应时应注意控制酸度。为排除硫化物的干扰，可先加入适量盐酸使其转化为硫化氢，加热驱除掉硫化氢后再加足盐酸投入铜丝进行检验。

（二）操作方法

取适量检材置于小锥形瓶中，加适量水使成粥状，投入砂磨光表面的铜片2片(或铜丝，长约1～2 cm)，加入检材体积十分之一的浓盐酸后小火加热，并适时补充水以保持体积不变。注意从底部观察铜片。若铜片已明显变色，应及时取出供下一步检验。检材中砷含量高时，应注意避免铜片表面沉积物因过厚而脱落。若铜片始终不变色，对体外检材可作出否定的判断；若铜片变色，根据沉积物色泽只可初步推测金属毒物的种类，但须作进一步的鉴别与确证。方法的检测限：砷0.3 μg/mL，汞约为3 μg/mL，锑约为1 μg/mL。

三、有机质破坏

有机质破坏(destruction organo-substance)是对生物检材进行金属毒物检测前的样品处理过程。它是通过氧化分解或灼烧等方式将检材中的有机物除去而留下被检测的金属。检材前处理的原则是尽可能少损失金属毒物；不引入被测金属成分和干扰物质；过量氧化剂和其他试剂易于除尽或不干扰待测金属。有机质破坏方法有消化法和灰化法两类(也称为湿法和干法)，各类方法其适用范围和效果不尽相同。在实际运用时，应根据案情、检测目标物、检材性状、数量等因素，综合考虑选择。

（一）湿法有机质破坏

湿法有机质破坏是在液体状态下氧化破坏并消除生物检材中的有机物质，这一过程也称为消化。消化后的体系状态应是金属最高氧化态的强酸性水溶液。

1. 原理　消化一般在浓强酸中进行，加入某种氧化剂并加热破坏消除有机物。常用的氧化剂有硝酸、硫酸、高氯酸、过氧化氢、高锰酸钾等，其中强氧化剂硝酸最为常用。氧化过程中，二氧化氮可传递电子，起着催化和促进硝酸氧化的作用。

$$HNO_3 + 3H^+ + 3e^- \longrightarrow NO + 2H_2O$$

$$2NO + O_2 \longrightarrow 2NO_2$$

$$HNO_3 + H^+ + e^- \longrightarrow NO_2 + H_2O$$

$$NO_2 + H^+ + e^- \longrightarrow HNO_2$$

$$HNO_2 + HNO_3 \longrightarrow 2NO_2 + H_2O$$

氧化分解生物检材中的有机质是一个复杂的过程。硝酸氧化蛋白分子中的各种官能团，并破坏生物检材中的其他有机结构，使之分解生成CO_2、SO_2、NO_2、H_2O等。但单独使用硝酸不易彻底消除有机物；对于烃类和具有长碳链的脂肪酸，硝酸氧化分解的作用较缓慢，也难于彻底消除。因此，常需配合选

用其他氧化剂。提高酸的浓度和反应温度可加快反应速率；必要时，加压也有利于加速反应进程。

2. 方法　湿法有机质破坏通常在长颈的凯氏烧瓶或三角烧瓶中进行。烧瓶的容积宜大于反应物体积的5倍。取绞碎的检材适量置于烧瓶中，加硝酸浸没检材，振摇，烧瓶瓶口插盖一小漏斗。用小火或置于电热板上缓慢加热，保持瓶内空间有红棕色的二氧化氮气体并能自然回流；少量多次地添加硝酸，直至固形物全部消失，反应物变成黄色至棕黄色的液体。足够大的烧瓶容积、缓慢加热和插盖一小漏斗，有利于控制暴沸、防止喷溅与维持自然回流。根据选用氧化剂的不同可适当采取加压措施。湿法有机质破坏有以下几种氧化体系可供选择。

(1) 硝酸-硫酸体系　该方法是用硫酸配合硝酸在加热的情况下进行有机质破坏。取剪碎的固体检材 5 g 或液体检材 5 mL 置 125 mL 凯式烧瓶中，加 10～15 mL 浓硝酸混匀，在通风橱中于水浴上或小火微沸加热至泡沫平息，冷却。再加 3～5 mL 硫酸，大火继续加热，使有机物进一步氧化分解。若瓶内液体颜色变深或红棕色的二氧化氮气体消失，立即离火稍冷后再添加少量硝酸继续加热。如此反复操作，直至瓶内液体变成无色或淡黄色，再加热颜色也不再变深时，加大火力，直至产生三氧化硫的浓重白烟或白烟即将被赶尽时，即可停止加热。此法得到的是含硫酸的溶液或固态物。多数金属化合物已转化为硫酸盐；硫酸钡以沉淀析出；硫酸铅能溶于浓硫酸，但稀释后可见沉淀析出；砷则以砷酸存在于溶液中或以砷的氧化物析出。

本法的主要优点：①硫酸不易挥发，在加热过程中随着水分的不断蒸发可逐步提高反应体系的酸浓度和温度，有利于硝酸进一步氧化有机物。②浓硫酸的脱水作用有助于氧化剂分解有机质。③产物金属中毒物的存在形式较单一，所得试液或试样量适中，没有大量非检测金属的无机盐残留，较有利于后续检测。本法适用于各种生物检材特别是脏器检材的有机质破坏。

(2) 硝酸-硫酸改良体系　为克服单用硝酸或用硝酸-硫酸法的缺点，可采用硝酸-硫酸改良法。改良的方法主要有两类：一是在硝酸、硫酸或硝酸-硫酸的基础上添加其他氧化剂（表 11－1），二是改良装置。

表 11－1　硝酸-硫酸改良法添加不同氧化剂的比较

添加氧化剂名称	主要优点	主要缺点	适用范围
高氯酸	有效消除炭化现象、降低反应温度	易发生发热、发光、爆炸等剧烈反应	钡与铅的检测（不用硫酸）、含有机质多的检材处理
过氧化氢	脱色效果好、无金属或酸根离子残留	稳定剂可引入金属离子干扰	含色素较多的检材处理
高锰酸钾	简易安全	不适用于含有机质多的检材、残留大量 Mn^{2+}	含有机质少的检材处理、尿中汞的冷原子吸收法测定

装置改良法主要有：改良反应器，如玻璃烧瓶→石英反应器→高压罐；改良加热手段，如明火→电炉→电热板→微波；添加附设器材，如冷凝器、回流装置、温控装置等。

(3) 高压法　使用特殊高压罐，在高温、高压的条件下消化分解检材中有机质的方法。高压罐是密封性很好的小罐，罐体用厚壁耐压材料、内壁用化学性质非常稳定的聚四氟乙烯制成。将检材、硝酸及被选用的其他氧化剂置于罐内，密闭后加热。罐内空气、水蒸气、试剂气体以及氧化反应产生的大量气体，在密封加热的情况下产生高压，检材在高压下受热消



解，使有机质破坏更迅速更彻底，金属毒物基本无挥发损失。罐体用耐压金属材料制作的高压罐可从外部加热，例如置于烤箱中加热；罐体用耐压非金属材料制成的高压罐可用微波加热，比其他加热方法更便于控制也更安全。这种方法可处理的检材量少，且对检材品种、数量以及使用氧化剂的种类与数量都有严格要求。操作控制不当容易发生爆炸。该法在卫生检验和一些研究工作中已得到良好应用，但在法医毒物分析工作中的应用尚少。

（二）干法有机质破坏

干法有机质破坏是在高温炉中经干燥直至灼烧检材中的有机物质，留下被测金属的成分。灰化后的金属成分视灰化方式不同而呈现不同的化合状态。

1. 直接灰化法　将烘干的检材捣碎后置坩埚中，小火加热使其炭化，转至高温炉中450℃至600℃灼烧灰化2～4 h。灰分用硝酸或王水溶解，蒸干，制成水溶液供检。灰分中金属主要以氧化物或碳酸盐形式存在。在炭化和灰化过程中，一些金属化合物可被有机物或碳还原成低价化合物或单质。直接灰化法只适宜高温下不挥发损失的金属。

2. 碱性硝酸盐熔融法　在碱性条件下加入氧化剂共同加热熔融实施有机质破坏。与此同时一些酸性金属氧化物与碱形成盐，低价态金属被氧化成为高价态而减少挥发损失。常用的方法是碳酸钠-硝酸钾熔融法。可选用的碱还有碳酸钾、氧化镁、氧化钙；氧化剂还有硝酸钠。

取适量检材与等量无水碳酸钠和等量硝酸钾混合，低温烘干，研碎备用。置少量硝酸钾于坩埚中，小火加热。待硝酸钾熔化后，少量多次地加入检材混合物。必须待上一次加入的检材消化成无色熔融液态后才能加入下一次。若有黑色炭粒长时间不消失，应适当添加硝酸钾。全部检材消化完后，即可停止加热。待坩埚冷却后，熔块用纯水或稀酸溶解供检测。熔融法不适用于含汞检材的有机质破坏，例如硝酸汞[$Hg(NO_3)_2$]在79℃即熔融成液态，温度再升高即能分解挥发。

第二节　常见的金属毒物

一、砷化合物

（一）一般性状

砷（arsenic，As）俗称砒，单质砷为灰色斜方形菱晶，自然界广泛存在，相对原子质量74.9，高温能升华。砷能与大多数金属生成合金或化合物，能与氧、硫、卤素等非金属元素形成化合物。砷的化合价有三价和五价。三氧化二砷是四面体或八面体结晶体，它是砒霜的主要成分。砒霜有白砒与红砒之分，红砒因含硫化物而显红色。三氧化二砷略溶于水，它是偏酸性的两性氧化物，可溶于酸，更易溶于碱溶液生成亚砷酸盐。五氧化二砷的酸性比三氧化二砷强。硫化砷主要来自矿物，常见的有红色的雄黄（realgar，As_2S_2）和黄色的雌黄（orpiment，As_2S_3），两者性质相似。硫化砷不溶于水和稀酸，但可溶于碱，受热分解生成氧化砷，经化学反应也可生成可溶性或挥发性的砷化合物。

（二）分布与毒性特点

砷广泛存在于自然界中。动植物体内一般都含有微量砷，不同地区和不同品种的生物，其体内含砷量有较大差别。正常人体内砷含量也有地区和生活习性的差别；但一般皆低于或远低于1×10^{-6}。进入人体的砷排泄较慢，有积蓄作用，在毛发和骨骼中较显著。急性砷中毒者的内脏和体液中砷含量可明显增高；慢性中毒者的某些组织中可有砷积聚，以毛发较显著。

砷中毒史已逾千年，常被用于投毒他杀，近年来还有小剂量多次投毒的案件发生。砷中毒也见于意外，有案例报道农村有误将砒霜当点豆腐用的石膏使用，还有利用废旧的、

曾装三氧化二砷或亚砷酸钠的编织袋盛装粮食而发生砷中毒的事件。我国一些地区因长期饮用含砷量较高的水而患地方性慢性砷中毒疾病。所以砷的检测在毒物分析中一直占有很重要的位置。

砷的化合物多有毒性，可溶性或挥发性砷化合物毒性均较大。硫化砷因难溶于水和稀酸而无明显毒性，一旦转化为可溶性或挥发性的砷化合物也有剧毒。中毒事件中遇到最多的是砒霜。

（三）检材处理

现场可疑物中，如药粉应先检查外观形态，必要时作挑选或镜下观察，再用化学反应检验。怀疑混有砒霜的粮食米饭等，可利用砒霜相对密度较大(4.15)的性质分离，例如将检材置于容器中，加入适量的水，振摇后放置，待砒霜沉于底部可取出检验。组成复杂外观不能辨认的可疑物，如菜肴、呕吐物、胃肠内容物等体外检材可用 Reinsch 方法检验。体内检材需经有机质破坏后才能检测砷。经有机质破坏后，砷呈五价化合态。

（四）检测方法

砷的检测，除性状观察、Reinsch 试验之外，一般均将砷转化为砷化氢(AsH_3)气体，选择 Gutzeit 法、Ag－DDC 比色法或原子吸收分光光度法检测。由于微量砷的普遍存在，注意进行对照试验以排除干扰，生物检材中检出砷，应区别金属正常含量与中毒。

1. 砷的确证试验

（1）升华试验　还原反应后的阳性铜片（或铜丝），应先用水淋洗，用滤纸吸干，再依次用乙醇、乙醚洗涤，挥干，以除去沉积物表面粘附的油脂和水分。将处理好的铜片放入干燥的砷升华管底部，用小火焰外缘紧靠氧化焰处加热片刻，观察管内中上部有无升华物产生。室温下用低倍显微镜观察升华管中的升华物形态来确证沉积在铜表面的金属毒物，砷为四面体或八面体结晶。锑多为无定形体，偶尔也有呈晶体状。其他金属在铜片上的沉积物无升华现象。

砷与锑的鉴别：吸取 10%盐酸于毛细管中以溶解升华物。将所得溶液移到载玻片上，液滴旁加一小滴安替比林-碘化钾试剂并使两液接触，若出现金黄色沉淀浮于液面则表明可能有锑。砷不生成沉淀，有时略有浑浊。安替比林-碘化钾试剂的配制方法为：1 g 安替比林、2 g 无游离碘的碘化钾共溶于 30 mL 水中。

（2）化学反应　用少量 1 mol/L 碳酸钠溶液溶解可疑物，取清液滴加稀硫酸中和至中性，加入数滴硝酸银溶液，若有三价砷，可生成黄色亚砷酸银(Ag_3AsO_3)沉淀；若有五价砷，则生成棕色砷酸银(Ag_3AsO_4)沉淀。沉淀能被硝酸或氨水溶解。

2. 砷化氢的检验　砷化合物常被还原生成砷化氢后再进行检测，以这种方式可以测出检材中微量的砷。可供选择的方法有 Gutzeit 化学显色法、Ag－DDC 比色法、原子吸收分光光度法检测。

砷化氢的生成原理：在稀硫酸或稀盐酸的溶液中加入锌粒产生的新生态氢可将砷化合物还原成砷化氢。适宜的酸浓度为 2～4 mol/L。湿法有机质破坏所得的硫酸溶液可加约 10 倍量水稀释；碳酸钠-硝酸钾熔融法所得产物用水溶解后，应滴加硫酸中和，除尽碳酸盐，再加入检液体积 1/5 的盐酸或 1/10 的硫酸。五价砷化合物难以直接还原成砷化氢，需加入适量酸性氯化亚锡溶液，摇匀放置数分钟使五价砷还原成三价砷。加入锌粒后立即装好导气管以避免砷化氢逸失。为保持适当的反应速率，宜在水浴上保持温度 30～40℃。若要定量，则所有检材和检液的分取皆须计量。

（1）Gutzeit 法　砷化氢能与银、汞、金等化合物生成有色物质，可用于各类检材中微量砷的检测。试剂可用硝酸银、氯化汞、溴化汞、氯化金等。硝酸银与砷化氢生成黄色砷化银，遇水析出金属银而呈黑色。常用的

是溴化汞，它与砷化氢生成黄色→棕色→黑色的产物。

$$AsH_3 + 3HgBr_2 \longrightarrow 3HBr + As(HgBr)_3 \text{（黄色）}$$
$$AsH_3 + As(HgBr)_3 \longrightarrow 3HBr + As_2Hg_3 \text{（黑色）}$$

检测装置如图 11－1。用溴化汞乙醇溶液浸渍过的干燥滤纸作试纸，夹在导气管顶端的开口有机玻璃夹中。反应瓶里产生的砷化氢通过试纸时与溴化汞作用。配制含砷 1～10 μg/mL 的梯度系列标准液，分别与待测液同时进行平行操作实验，比较色斑颜色深浅可估测检液中的砷含量。砷含量过高时，须将检液稀释后再测。经过有机质破坏的检液一般已无硫化氢的干扰，其他检材须考虑硫化氢的干扰。使气体先通过醋酸铅棉吸收可排除硫化氢的干扰。磷化氢与锑化氢皆有干扰。锑化氢与溴化汞形成的色斑，在盐酸瓶口熏数分钟可逐渐褪色，也能溶于 80%的乙醇中，可与砷化氢区分鉴别。

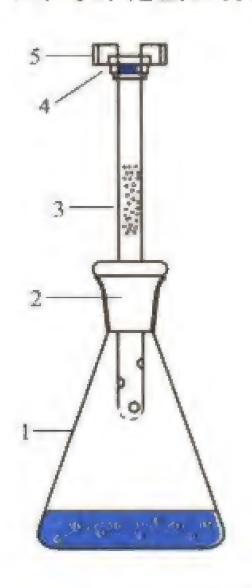


图 11－1　Gutzeit 法测砷装置
1. 反应瓶；2. 中空磨口塞；3. 导气管（可装入醋酸铅棉花）；4. 中央有圆孔的有机玻璃旋塞；5. 中央有圆孔的有机玻璃旋盖；试纸加在 4 和 5 之间

（2）Ag－DDC 比色法　二乙基二硫代氨基甲酸银（silver diethyldithiocarbamate，Ag－DDC）在有机碱溶液中与砷化氢反应，生成红色产物，对可见光有宽吸收带，可在氯仿等有机溶剂中于 510 nm 附近用比色法测定。用含有一定量 Ag－DDC 和三乙胺的氯仿溶液吸收砷化氢，所得吸收液用氯仿定容后测定吸光度，用砷标准系列溶液以相同方法平行操作制备标准曲线。线性范围为 1～10 μg。本法适用于测定一般检材中的微量砷。吸收装置如图 11－2。

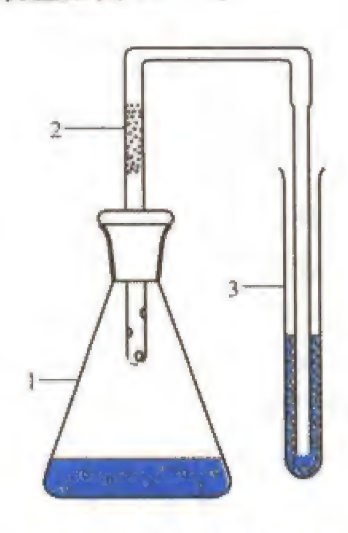


图 11－2　Ag－DDC 比色法测定砷的吸收装置
1. 反应瓶；2. 导气管（可装入醋酸铅棉花）；3. 吸收管

（3）原子吸收分光光度法　在 pH 1～2 的条件下砷化合物经硼氢化钠还原生成砷化氢，可用载气导入原子化器进行原子吸收分光光度测定。特征谱线是 193.7 nm。

二、汞化合物

（一）一般性状

汞（mercury，Hg）俗称水银，常温下是唯一的液态金属，相对分子质量 200.59，相对密度 13.6。汞易挥发，若暴露在空气中，达到饱和时，空气中约有汞蒸气 20℃ 13 μg/L，50℃达 0.126 mg/L。金属汞不溶于盐酸，能溶于硝酸或热硫酸，也能溶于氢碘酸。汞的硫化物、氧化物、碘化物等都有颜色。天然硫化汞多为红色，称为辰砂、朱砂、银朱等；在溶液中反应生成的硫化汞则多为黑色。硫化汞极难溶于水和一般稀酸碱，但高温可使之分解，热硝酸或王水等可使之溶解成为可溶性盐。氧

化汞呈红色或黄色，在水中的溶解度小，但可溶于酸。汞的化合价有一价和二价，一价汞在适宜条件下能歧化生成单质汞与二价汞。

（二）分布与毒性特点

在天然矿物中汞主要以硫化物形式存在。正常人体内一般都含有微量汞，但目前不认为汞是人体必需的微量元素。有汞接触史的人，体液或内脏中汞含量可高达 1×10^{-6} 以上，以肾中最高。汞和汞化合物进入人体后排泄慢，在体内可长期积蓄。

液态汞，因其难溶而无显著毒性，一旦进入体内因密度大可造成机械性损伤，还会并发疾病甚至死亡。汞蒸气有毒，长期处于含汞环境可引起慢性中毒。汞化合物的毒性与其溶解性密切相关。硫化汞因极难溶于水和稀酸碱常被认为无毒；氧化汞溶于酸而有强毒性。一价汞化合物多因溶解度小而毒性较低，例如氯化亚汞（Hg_2Cl_2，甘汞）的毒性较小可用作泻药。氯化汞（$HgCl_2$，升汞）可溶于水有剧毒。

汞在细胞内被氧化成 Hg^{2+}，Hg^{2+} 与蛋白质的巯基结合，主要损害神经系统和肾脏。大量 Hg^{2+} 使组织细胞产生蛋白质变性和坏死，对肾的伤害尤为突出。汞化合物的防腐作用强，急性汞中毒致死者的体内检材常不易腐败。

（三）检材处理

体外检材用 Reinsch 试验检验。现场可疑药粉可直接进行化学法检验。引起中毒的多是无机汞化合物，对混有食物的可疑物可用稀盐酸浸提，滤取清液用化学反应法检验。尿样可用蛋白沉淀富集后碘化亚铜法检测，也可经高锰酸钾湿消化后冷原子吸收光度法检测。内脏检材须经有机质破坏后检测。因汞和汞盐易挥发，不宜用干法有机质破坏，可在采取防范措施下用湿法破坏有机质。

（四）检测方法

汞的筛选有 Reinsch 试验，确证方法有升华法、化学法、薄层色谱法、双硫腙汞分光光度法、原子吸收分光光度法等供选用。体内检材中检出汞，应注意区别金属正常含量与中毒量。

1. 升华法　Reinsch 试验后得到的银白色阳性铜片（或铜丝），经处理后置于升华管中升华，若有汞升华物镜下可见大小不等、可反射光而不透明的汞珠。

也可在升华管中靠近升华物处放入一小粒碘，放置 1 h 后，在低倍显微镜下观察。若有汞，则可见红色碘化汞晶体，加热至 127℃ 以上则转变为黄色碘化汞晶体（图 11－3）。

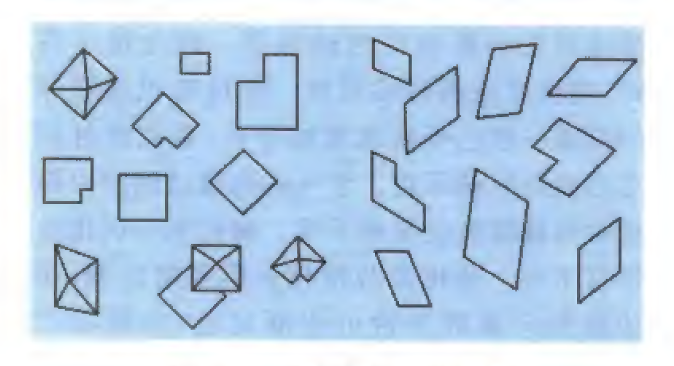


图 11－3　碘化汞的晶体形状

左：红色碘化汞；右：黄色碘化汞

2. 化学法　可利用汞盐的下述化学反应检测汞。

（1）与碱反应　加 6 mol/L 氢氧化钠使溶液呈强碱性，汞盐生成黄色氧化汞沉淀。若在稀盐酸溶液中改用氨水替换氢氧化钠，则生成白色氯化氨基汞[$Hg(NH_2)Cl$]沉淀。

（2）还原反应　检液中滴加氯化亚锡的盐酸溶液，可见亚汞盐沉淀析出，继续滴加可见黑色金属汞沉淀生成。

（3）与碘化亚铜反应　汞盐、金属汞和汞蒸气都能和碘化亚铜反应生成砖红色不溶性复合物。反应灵敏，专属性强，可用于检测微量汞。反应过程如下：

$$Hg + 3CuI \longrightarrow HgI_2 \cdot CuI + 2Cu$$

$$Hg^{2+} + 3CuI \longrightarrow HgI_2 \cdot CuI + 2Cu^{+}$$

$$\underset{\text{白色}}{HgI_4^{2-} + CuI} \longrightarrow \underset{\text{红色}}{HgI_2 \cdot CuI} + 2I^{-}$$

复合物可溶于碘化钾溶液，形成 HgI_4^{2-} 离子，沉淀溶解。因此，碘化亚铜可用作汞的分离富集试剂。

碘化亚铜的制备：取 16% 碘化钾溶液与 10% 硫酸铜（$CuSO_4 \cdot 5H_2O$）溶液等体积混合，即生成碘化亚铜沉淀，同时析出碘。过滤，沉淀用水多次洗涤至无游离碘。滤取所得碘化亚铜沉淀，用水制成混悬液供试。将混悬液涂布在滤纸上，可用于检查空气中的汞。也可将 Reinsch 试验所得的铜片用此试纸裹夹，若沉积物中含汞则有红色出现。

（4）与碘化钾反应　含汞检液中滴加碘化钾溶液，可生成红色碘化汞沉淀，沉淀溶于过量碘化钾溶液。

$$Hg^{2+} + 2KI \longrightarrow HgI_2 \downarrow + 2K^+$$
$$HgI_2 + 2KI \longrightarrow HgI_4^{2-} + 2K^+$$

3. 薄层色谱法　该法适用于有机汞化合物（如醋酸苯汞、氯化乙基汞、氯化甲基汞及氯化苯基汞等）的分析。血液、胃内容物、呕吐物等检材中的含汞有机药毒物，可用温热乙醇浸渍提取。滤取乙醇提取液，低温蒸发浓缩，定容，作薄层色谱检测。可在硅胶 G 板上用正己烷-丙酮（8.5∶1.5）、氯仿-正己烷（9∶1）或异丙醇-水（9∶1）等混合溶剂展开，用 0.05% 双硫腙的氯仿溶液显色。在同一层析板上作已知品对照和空白对照。

4. 双硫腙（dithizone）汞分光光度法　汞离子与双硫腙生成橙黄色双硫腙汞螯合物，可于 490 nm 处测定。原理同第八章中锌的测定。测汞时，检液应在 pH 1～2 的条件下用双硫腙的氯仿溶液萃取多次，合并氯仿液，用氨水振摇除去剩余的双硫腙后，脱水，定容，测定吸光度。用已知系列标准平行操作制备标准曲线。检出浓度限 5 μg/mL（取尿样 50 mL）。

5. 原子吸收分光光度法　汞在较低温度下即能挥发成蒸气，不一定像其他金属那样需要进行高温原子化。汞灯也较易制备，市售已有结构简化、使用方便的专用测汞仪。检材中的汞化合物用酸性氯化亚锡还原为金属汞，在一定温度下用载气将汞蒸气导入吸收池进行测定。用已知标准平行操作对比。该法也叫冷原子吸收光度法。

6. 尿汞的测定

（1）蛋白质凝聚富集-碘化亚铜法　先使蛋白质与尿中的微量汞结合，再使蛋白质凝聚与尿液分离，用碘化钾-碘溶液溶出凝聚蛋白中的汞，最后用碘化亚铜检测。取尿 40 mL，加醋酸使呈显著酸性，加入 0.5～1 g 氯化钠并溶解；另取鲜鸡蛋清加 3 倍水稀释搅匀，分取 5 mL 加入尿液中，剧烈搅拌均匀，片刻后置沸水浴上加热，使蛋白质完全凝固呈细絮状沉淀。用双层滤纸抽滤，沉淀用少量水洗 3 次，抽干。连同滤纸取下沉淀，置烧杯中，准确量取含碘 0.8% 和碘化钾 3% 的溶液 10 mL 浸渍沉淀和滤纸，搅拌 10～15 min 后滤取溶液，分取 4 mL 滤液于比色管中，加入新配制的亚铜试剂 3 mL，摇匀。反应形成的碘化亚铜混悬液，依含汞量的多少显现深浅不同的红色。用相同的碘-碘化钾溶液配制的，含汞量为 0～10 μg/mL 的梯度系列标准作平行操作对比，可换算得尿中含汞量。

亚铜试剂的配制方法：取 16% 的亚硫酸钠（$Na_2SO_3 \cdot 7H_2O$）溶液 40 mL 置烧杯中，加入 10% 硫酸铜（$CuSO_4 \cdot 5H_2O$）溶液 20 mL，搅拌，待生成的沉淀又全部溶解，加入 8% 碳酸氢钠溶液 10 mL 混匀，立即使用，现用现配。

（2）冷原子吸收光度法　尿中汞可使用专用测汞仪测定，其原理是冷原子吸收光度法。分取定量待测尿置于反应瓶中，加定量稀硫酸溶液调为酸性，滴加高锰酸钾溶液消解有机质并将汞转化为 Hg^{2+}，直至加最后一滴高锰酸钾溶液 1 min 后红色不消褪；滴加盐酸羟胺溶液还原过量高锰酸钾，至红

色刚好消褪；所得试液转入汞蒸气发生瓶，沿瓶壁加入定量酸性氯化亚锡溶液，立即盖紧盖子接好事先已连接好的导气管；发生瓶置22～25℃水浴（或室温）恒温，振摇一定时间待 Hg^{2+} 被充分还原为金属汞；开启发生瓶两端阀门，载气气泡将试液中汞气化并导入吸收池进行测定。用已知系列标准平行操作对比定量。检出限 0.8 μg/L。

三、钡化合物

（一）一般性状

钡（barium，Ba）是银白色碱土金属，相对原子质量为 137.3。无机钡化合物大多数是白色结晶性粉末。除硫酸钡以外，钡的化合物多能溶于水或酸而显毒性。钡的硝酸盐和氯化物易溶于水，氧化物、氢氧化物和弱酸盐都可溶于稀盐酸或稀硝酸。无机钡化合物一般难溶于有机溶剂。有些钡盐的毒性与阴离子有关，例如氰化钡为白色结晶，能溶于水，遇水或酸则产生剧毒的氢氰酸；再如砷化钡、砷酸钡、亚砷酸钡、氟化钡、硫化钡等，阴离子的毒性有可能是主要的。硫酸钡既不能溶于酸、碱或水，在一般情况下也难以转化为其他可溶性化合物，是少有的无毒钡盐。

（二）中毒特点

尽管钡和钙同属碱土金属，但钙是人体必需的元素，而钡有毒。氯化钡与碳酸钡可用作杀鼠药，硫化钡可作脱毛剂，氟硅酸钡可用于农业杀虫，硝酸钡是制造烟花和信号弹的原料，使用不当可致中毒。碳酸钡加醋酸生成可溶性醋酸钡并产生二氧化碳气泡，可被误当作食用碱而造成中毒。中毒事件中较常遇到的是碳酸钡和氯化钡。曾有用钡盐投毒的事件发生。钡中毒多为急性中毒。钡盐进入机体后大部分蓄积在骨骼和肌肉中。

（三）检材处理

可疑药粉可直接检验。饮食物、呕吐物、胃内容物等检材可用水或稀盐酸浸提，应注意避免硫酸或硫酸盐的干扰。可疑物或浸提液可用化学反应检验。骨骼、肌肉等检材须进行有机质破坏，可用直接灰化法或碳酸钠-硝酸钾熔融法，产物溶于少量稀盐酸或水供检验。用湿法有机质破坏应避免用硫酸；如已使用了硫酸，钡盐已全部形成硫酸钡，在排除钡餐造影等硫酸钡的非中毒来源或因素后，可将硫酸钡转化为可溶性盐，再作检验。

硫酸钡的转化：滤取硫酸钡，水洗，烘干，加5～10倍碳酸钠研匀，于坩埚中熔融。冷却后，用尽可能少的水浸渍，使碳酸钠溶解。分取沉淀，水洗数次，加适量稀盐酸，使其中已转化成碳酸钡的部分溶入稀盐酸供检验。一次处理不可能将硫酸钡全部转化成碳酸钡，欲转化得比较完全，须经多次重复操作转化。

（四）检测方法

钡可用直接火焰法、化学反应法和原子吸收分光光度法等检测。

1. 直接火焰法　取铂丝用盐酸湿润后蘸取检液，在无色火焰中燃烧，钡离子发黄绿色光；透过绿色滤光片观察，显蓝色。检出限 50 mg/L。大量钠离子发黄色强光可干扰观察。

2. 玫瑰红酸钠法　Ba^{2+} 能与玫瑰红酸钠反应生成红棕色沉淀。取 Ba^{2+} 检液于离心试管中，滴加 0.2%玫瑰红酸钠溶液，生成红棕色的玫瑰红酸钡，在加入 2 mol/L HCl 至强酸性，沉淀变为桃红色，示有 Ba^{2+}。

3. 铬酸钡沉淀法　在弱酸性溶液中 Ba^{2+} 与铬酸根离子生成黄色沉淀。检出浓度限为 1∶12 500。铅、锶、银的离子也与铬酸根生成有色沉淀，可取沉淀作鉴别试验——铬酸铅沉淀能溶于氢氧化钠，铬酸锶沉淀可溶于醋酸，铬酸银沉淀易溶于氨水。

4. 显微结晶试验　取弱酸性检液一滴，置玻片上微热，加一小粒氟硅化铵[$(NH_4)_2SiF_6$]，如含钡盐，则生成 $Ba(SiF_6)$ 结晶，镜下可观察其针状细棱柱晶体。

5. 原子吸收分光光度法　钡的氧化物

不易解离，原子化宜用富燃火焰，特征谱线553.5 nm，检出限8 μg/mL，线性范围100～1 000 μg/mL。用石墨炉高温原子化，检出限0.13 ng/g。

四、铬化合物

（一）一般性状

铬(chromium，Cr)是银白色金属，是过渡元素，相对原子质量为52。铬有+2、+3、+6三类化合价。铬化合物都有颜色。二价铬的化合物不稳定。三价铬的氧化物具有酸碱两性，绿色的Cr_2O_3溶于强碱生成深绿色的亚铬酸盐(CrO_2^{2-})，溶于硫酸生成硫酸铬[$Cr_2(SO_4)_3$]；含结晶水不同的硫酸铬有不同颜色——$Cr_2(SO_4)_3$桃红色，$Cr_2(SO_4)_3 \cdot 6H_2O$绿色，$Cr_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$紫色。六价铬的化合物中，氧化铬($CrO_3$)为红色，铬酸盐($CrO_4^{2-}$)多呈黄色，重铬酸盐($Cr_2O_7^{2-}$)多为橙红色。六价铬化合物具有强氧化性。

（二）分布与毒性特点

铬在地壳中的含量约0.018%，多以铬铁矿和铬铅矿的形式存在。铬的化合物有多方面用途。铬是人体必需的微量元素之一，又是有害元素，过量铬的摄入有损健康。正常人体内的含铬量，全血中为1～5 μg/L，尿中为2～40 μg/L。铬化合物中毒性大的是六价铬化合物，其毒性主要是氧化腐蚀作用，破坏体内的氧化还原体系。由于铬化合物多有颜色，且有异味，少见用于谋害，中毒事件多为意外，也曾有用于自杀的。吞服六价铬化合物者，其呕吐物、胃内容物、胃壁常染有黄色或橙红色，消化道留有绿色腐蚀斑，为检验提供了线索。

（三）检材处理

现场不难从外观形态发现铬的可疑物。可疑物也易于用简单的化学方法鉴别。检材中的水溶物可用水浸渍后滤取水溶液供检，水不溶物可用稀硫酸浸取供检。检材经湿法有机质破坏或碱性硝酸盐熔融后，铬以六价状态存在。

（四）检测方法

三价铬化合物和铬酸盐有多种较实用的化学反应可进行快速检验，还可利用铬化合物的特殊颜色在可见光区作可见分光光度法测定或用原子吸收分光光度法检测金属铬。

1. 三价铬化合物的化学反应法检验

（1）与碱的反应　酸性液中加碱使呈碱性，析出灰蓝色氢氧化铬胶状沉淀，加入过量氢氧化钠变成绿色亚铬酸钠溶液。

（2）氧化成铬酸盐的反应　检液中加入氢氧化钠使呈碱性，再加入过氧化氢或过氧化钠，可将三价铬氧化成为铬酸钠（黄色溶液）。

2. 铬酸盐的化学反应法检验

（1）铬酸盐沉淀试验　在中性或近中性的溶液中，铬酸根离子能与Pb^{2+}、Ba^{2+}等生成黄色沉淀，与Ag^+生成砖红色沉淀。

（2）过氧化氢试验　在酸性溶液中，铬酸或重铬酸能与过氧化氢作用，生成蓝色的过铬酸(H_2CrO_6)或过氧化铬(CrO_5)，产物在水中不稳定，随即分解为三价铬离子并放出氧，但在乙醚或戊醇中分解缓慢。在盛有检液的试管中加入少量乙醚，滴加过氧化氢溶液，振摇并使之分层，若有铬酸或重铬酸，醚层可显蓝色。此试验为铬酸或重铬酸的专一反应，检出限为2.5 μg，最低检出浓度为50 mg/L。检液中不应有还原性物质干扰。

（3）CrO_4^{2-}与$Cr_2O_7^{2-}$的转换　可溶性铬酸或盐在碱性溶液中显CrO_4^{2-}的黄色，在酸性溶液中形成$Cr_2O_7^{2-}$而显橙红色。

3. 可见分光光度法　可溶性铬酸盐在碱性溶液或酸性溶液中都有颜色，可用系列标准平行操作对照比色法或分光光度法测定。

铬酸盐在酸性溶液中与二苯卡巴肼(diphenylcarbazide)生成紫红色络合物，吸收峰540 nm，可用系列标准平行操作对照比

色法或分光光度法测定。

4. 原子吸收分光光度法　适用于微量铬的测定。特征谱线为 357.8 nm。

五、铊化合物

(一) 一般性状

铊(thallium,Tl)为银白色金属，相对原子质量 204.4。质重而软，室温下易氧化，易溶于水、硝酸和硫酸。其水溶液无色、无味、无臭，能与有机溶剂结合生成有机铊化合物，常见的铊化合物有醋酸铊、硫酸铊、硝酸铊、氧化铊、碳酸铊、溴化铊和碘化铊。

铊广泛存在于铁、铅、铜、锌等矿石中，开采和冶炼过程都有可能接触铊。在工业中铊主要用于制造光电管、合金、低温温度计、颜料、染料、焰火等。溴化铊和碘化铊是制造红外线滤色玻璃的原料。铊的烟尘可经呼吸道吸收，可溶性铊盐易经胃肠道和皮肤吸收。硫酸铊可制造杀虫剂和杀鼠剂。醋酸铊曾用于脱发治疗头癣。

(二) 毒性

金属铊和铊盐属高毒类金属化合物，铊对哺乳动物的毒性大于铅、汞。与砷相似，铊具有蓄积性，属强烈的神经毒物，对肝、肾也有损害。一般情况下铊对成人最小致死量约为 12 mg/kg，也有人认为对成人的最小致死量在 0.12～1.0 g 之间。人摄入后 2 h 血铊浓度达到最高值，24～48 h 血铊浓度明显降低。在人体中分布以肾含量为最高，其次是肌肉、骨骼、肝、心、胃、肠、脾、神经组织，皮肤和毛发中也有一定量的铊。铊主要通过肾和肠道排出。

铊中毒多见于意外，国外铊致中毒和死亡的他杀案例时有报道。近年来，我国也不断有铊盐投毒和中毒案例报道，铊中毒已在临床救治和法医学工作中引起高度注意和警惕。

(三) 检测

对于铊中毒患者应作尿铊和血铊实验室检验，中毒死亡者可取血、尿、肾、下肢肌肉、心、肝、骨等检材检验铊含量。血样和尿样可采用 HNO_3-HClO_4 或 $HNO_3-H_2O_2$ 体系于 180℃完全消化，也可在消化罐内用微波消化。原子吸收分光光度法和离子质谱法(ICP-MS)检测生物样品中的痕量铊都是较先进和实用的分析方法。

小结

金属毒物的急性和慢性中毒案例均时有发生，对金属离子的体内含量进行定量测定更为重要。视拟采用的定量分析方法不同(如原子吸收分光光度法、电感耦合离子色谱法、发射光谱法等)，体内检材必须经过有机质破坏后再制备成不同测定方法所要求的样品测定形式。金属毒物的特性、分析操作程序是本章节的重要内容。经典的 Reinsch 筛选试验和 Gutzeit 测砷法至今仍在法医毒物分析中延用。砷、汞、钡是法医学中较常遇到的金属毒物，铊的中毒案例近年来逐渐增多，毒物学研究人员对铊的分析和研究也在不断深入之中。

Summary

Determining the quantity of metal ions in the body is even more important, for acute and chronic poisoning of metal poisons case take place occasionally. The body material must be destoryed to obtain the desired form according to the different quantitive methods. The characters of analytes and the procedure of analysis are the key contents of this chapter. Classic Reinsch

test and Gutzeit examine are still used in forensic analysis now. The Arsenic, Mercury, Barium are the common metal poisons in forensic practise. The poisoning case of the Thallium increases gradually in recent years, and the analysis and studies of Thallium are interesting topic from time to time.

思考题

1. 有机质破坏指的是什么？举例说明。
2. 测新鲜血清中的 K^+、Na^+，处理样品时是否也要经过有机质破坏？解释之。
3. Reinsch 试验使铜片表面出现银白色，如何确证检材中可能含有的金属毒物？
4. Gutzeit 法可以定量测砷吗？怎样操作？应注意什么？
5. 黑色铜片上的升华物是正四面体和八面体结晶，你认为这是什么金属毒物？
6. $BaCl_2$ 和 $BaSO_4$ 的毒性相同吗？为什么？用什么方法快速检出 Ba^{2+}？
7. 采用直接灰化的方式处理含砷的骨骼和毛发妥当吗？为什么？
8. 请查阅关于金属铊的中毒表现、毒物形式和使用方式的资料和案例。
9. 请查阅资料，总结铜、铬中毒案例大多来自哪些方面？有什么特点？
10. 有一疑似钡盐中毒死亡的尸体，已埋葬 6 年，现在可否作金属钡鉴定？设计取材和分析方案。

（华中科技大学法医学院　金鸣）

第十二章 水溶性无机毒物

要 点	
水溶性无机毒物	本章讨论的水溶性无机毒物包括亚硝酸盐，强酸、强碱等其他腐蚀性毒物。
检材及其处理原则	该类物质中毒分析的供试检材主要有胃内容物、呕吐物、残留饮食物、被污染的衣物等。 检材一般可用水浸泡，经过滤或离心后，取滤液或上清液进行分析；也可用透析法分离后，取透析液进行分析。
相关主题词	分析化学 法医毒理学 毒物学 生物化学

第一节 概述

常见水溶性无机毒物包括亚硝酸盐，强酸、强碱等其他腐蚀性毒物。

1. 亚硝酸盐（nitrites） 主要是指亚硝酸钠和亚硝酸钾，它们广泛用于染料工业、有机合成及分析试剂等，常因误作食盐或面碱食用而造成中毒，也有见于投毒或自杀。也有报道因大量食用腐烂变质的蔬菜而引起中毒。

蔬菜中常含有较多的硝酸盐及少量的亚硝酸盐，特别是当大量施用含硝酸盐的化肥或土壤中缺钼时，蔬菜中硝酸盐的含量会更高。如果蔬菜存放的温度较高，在细菌及酶的作用下，亚硝酸盐含量增加；当其开始变质腐烂时，亚硝酸盐含量迅速增高。

当人体胃肠功能失调、胃酸降低，不能抑制硝酸盐还原细菌的繁殖时，食用大量叶类蔬菜，可引起所谓“肠原性发绀症”，即硝酸盐还原菌在肠道内将蔬菜中的硝酸盐还原成亚硝酸盐，由于形成过多而引起中毒。

亚硝酸盐是一种血液毒素，亚硝酸根离子（NO_2^-）能将血红蛋白中的二价铁离子（Fe^{2+}）氧化成三价铁离子（Fe^{3+}）而使血红蛋白变性失去携氧功能，致使机体组织缺氧，呼吸麻痹，窒息而死亡。口服亚硝酸盐 0.2～0.5 g 即可中毒，约 1～2 g 可致死。

亚硝酸盐中毒的生化机制：

$$2HNO_2 \longrightarrow NO + NO_2 + H_2O$$
$$[HbFe(\mathrm{II})O_2]^{2+} + NO \longrightarrow [HbFe(\mathrm{III})]^{3+} + NO_3^-$$

亚硝酸盐中毒症状：

亚硝酸盐中毒的主要症状是口唇、指甲及全身皮肤出现发绀等组织缺氧表现，并有头昏、头痛、恶心、呕吐、腹痛、腹泻等症状。重症者可出现昏迷、痉挛和惊厥，常死于呼吸衰竭。

大量服用纯亚硝酸盐时，胃内可产生棕色二氧化氮气体，黏膜被染为棕红色；血液多呈酱红色。

2. 强酸强碱 通常所说的强酸系指无机强酸如硫酸、盐酸、硝酸及“王水”。强碱系指氢氧化钠（苛性碱）、氢氧化钾及碱性稍弱

的碳酸钠(纯碱)和碳酸钾;氨水虽不属于强碱,但其也具有较强的腐蚀作用。它们均为重要的化工原料和化学试剂,应用极其广泛。

强酸、强碱中毒(化学灼伤)常见于蓄意伤害犯罪,将强酸泼洒在被害人体,使被害人皮肤灼伤(图 12-1)、毁容、衣物毁坏。也可见于工伤事故,偶见于自杀或误服。



图 12-1 硫酸灼伤

(1) 强酸的中毒机制和症状 强酸主要能使蛋白质凝固,造成凝固性坏死。其接触部位充血、水肿、坏死及溃疡。严重时可引起受损器官穿孔、呼吸中枢受到抑制。强酸的毒性在很大程度上取决于酸的浓度与剂量,游离的氢离子浓度越大,毒性作用越强。浓硫酸、浓硝酸和浓盐酸对成人的口服致死量各约为 3~6 mL、8~10 mL 和 10~20 mL。

强酸中毒症状:

口服强酸后,咽喉、胃立即有强烈的烧灼感,并发生强烈呕吐,呕吐物为褐色,硝酸中毒的呕吐物为黄色,呈强酸性反应,其中混有血液及黏膜碎片。口渴,失音,尿少,心跳快而弱,呼吸困难,出冷汗,最后衰竭虚脱而死亡。强酸中毒死亡多发生在 24 h 内。

皮肤接触强酸后,可引起皮肤灼伤、腐蚀、坏死及溃烂。硫酸所致的皮肤溃疡界限清楚,周围微红,且溃疡较深,溃疡面上盖以灰白色或棕黑色痂皮(图 12-1),受损害部位疼痛剧烈;硝酸与皮肤接触后,可使皮肤变黄;盐酸接触皮肤,可使局部出现红斑及水泡。

尸检可见口腔、食管黏膜凝固性坏死,胃内容物为褐色液体,呈强酸性反应。胃壁严重腐蚀,有的可造成胃穿孔。硝酸因能与蛋白质产生硝化反应,可使唇、口腔腐蚀变黄。

(2) 强碱的中毒机制和症状 强碱主要通过氢氧根离子对组织起作用,使蛋白质溶解、组织液化坏死。血中过多的氢氧离子造成代谢障碍而严重中毒。

强碱中毒症状:

强碱中毒症状与强酸相似,但受腐蚀的部位呈糜烂状,呕吐物呈强碱性,且多为红褐色黏液状物。尿混浊呈强碱性,有的中毒者有血尿和蛋白尿,并可发生急性肾衰竭。

口服强碱中毒死亡的,可见唇、口腔、咽喉和食管呈灰白色肿胀,触之柔软,有肥皂样油腻感。胃也变软,黏膜肿胀脱落,呈红褐或淡绿褐色。死后,碱液经胃壁扩散,作用于邻近器官及组织,使之变软并呈淡灰色。

第二节 亚硝酸盐

一、理化性状

常见亚硝酸盐(nitrite)包括:亚硝酸钠(sodium nitrite, $NaNO_2$),相对分子质量 69.01

(俗称工业用盐),亚硝酸钾(potassium nitrite,KNO_2),相对分子质量 85.11。两者均为白色或浅黄色粒状结晶,无臭,味微碱而略苦,有潮解性,易溶于水,微溶于醇和醚。与有机物摩擦或撞击可引起燃烧和爆炸。亚硝酸钠熔点为 271℃。亚硝酸钾熔点为 297℃。

亚硝酸盐遇酸产生亚硝酸,亚硝酸很不稳定,仅存于冷的稀溶液中,微热即按下式分解:$2HNO_2 \longrightarrow NO\uparrow + NO_2\uparrow + H_2O$

相应检材应低温保存并及时检测。

二、检材处理

残余饮食物、胃内容物、呕吐物等检材,所含组分不太复杂时,可用水浸出液进行检验;必要时,可用透析法分离,取透析液检验;高效液相色谱法可直接检测血中或其他检材中的微量亚硝酸盐及硝酸盐。

透析法(dialysis)是利用溶液渗透现象进行分离的方法。

原理:与溶液的沸点升高、凝固点下降、蒸气压降低等现象一样,渗透压也是溶液的一种依数性现象。溶液的渗透压只与溶液中溶质粒子的数量有关,而与溶质粒子的化学性质无关。溶质粒子越多,溶液的渗透压越大。若将半透膜置于纯溶剂和溶液之间,溶液的渗透压大,使溶剂分子向溶液中渗透,导致溶液的体积增大浓度降低;而溶液中的小粒子溶质,包括小分子和小离子则可通过半透膜进入纯溶剂。若将半透膜置于两种浓度不同的溶液之间,也可产生类似现象。根据 Donnan 平衡原理,半透膜两边的渗透压相等时达到动态平衡。

操作:准备一根直径、长度适当的洁净玻璃管,将半透膜结扎在其底端形成桶袋状。将捣碎的检材或组织匀浆的稀薄水混悬液置于桶袋内,半透膜外用纯水浸泡。待膜内外的渗透压达到平衡后(玻璃管内液面高度不再升高)时,将膜外水溶液换成纯水,又可继续透析。合并所得透析液,可根据具体的情况直接检测,或经浓缩后检测。

透析法的优点是:可以将一些水溶性的小分子或离子型化合物从成分复杂的检材中分离出来,而且不改变其化学性质。依据所选择半透膜的通透性不同,大分子物质和较大的离子化合物、不溶性物质一般不能透过半透膜。其缺点是:费时较长,所得透析液中毒物的浓度一般较低。对于成分较简单的检材,通常不用透析法。

三、检测方法

1. Griess(格利斯)试剂反应　亚硝酸盐与对氨基苯磺酸在弱酸性条件下反应生成重氮化合物,再与 α-萘胺偶合,生成紫红色染料,一定浓度范围内颜色深浅与亚硝酸盐的含量成正比。

取检液适量,加 0.6% 对氨基苯磺酸的溶液,摇匀,放置片刻,加入 0.6% α-萘胺溶液,摇匀,反应片刻,显红色至红紫色。

(紫红色)

此方法可用于亚硝酸盐的定量测定。用适当浓度的亚硝酸盐标准系列溶液平行操作，空白试验做参比，在 520 nm 波长处，用分光光度计分别测定标准系列溶液和样品溶液的吸光度。线性范围约 1～10 μg/mL。使用本法应注意做空白对照试验，以排除干扰。

Griess 试剂配制及使用方法：

Griess 试剂不稳定，可分为甲、乙液分别配制保存，临用时取两液等量混合即可。甲液：对氨基苯磺酸 0.9 g 溶于 150 mL 30%的醋酸中；乙液：α-萘胺 1.2 g 溶于 50 mL 水中，过滤，滤液加 150 mL 30%的醋酸混合。

Griess 试剂也可制成固体粉末，便于现场检验。取α-萘胺、对氨基苯磺酸、酒石酸及干燥硅胶细粉，按 1∶10∶50∶40 的质量比研细混匀，密闭避光贮存。临用时，取少许试剂加入少量检液中，也可撒于湿润检材的表面，观察是否产生明显红色。

2. 1,8-萘二胺反应　亚硝酸盐与 1,8-萘二胺在弱酸性条件下反应生成橘红色 1,8-偶氮亚胺基萘沉淀。

$$C_{10}H_6(NH_2)_2 + HNO_2 \longrightarrow C_{10}H_6N_3H + 2H_2O$$

3. 丙咪嗪-盐酸反应　检液中加入 20%丙咪嗪盐酸溶液和浓盐酸，若有蓝色形成示有亚硝酸盐存在。检出限 0.1 μg。此反应对亚硝酸盐有较高的选择性。

4. 高效液相色谱法　适用于血中微量亚硝酸盐及硝酸盐的定量测定。

① 离子色谱法　取血清加等量水稀释，抽滤法去除蛋白质，滤液用 10 倍水稀释，取 10 μL 进样分析。

色谱系统条件：

固定相：涂有氯化十六烷基吡啶鎓离子的 TSK Gel ODS－C_8 TM(5 μm)。流动相：含 2.5%甲醇的 1 mmol/L 柠檬酸水溶液。紫外检测器(210 nm)检测。线性范围 0.03～10 μg/mL，检出限 5 ng/mL。

② 离子对色谱法　取血浆加 4 倍体积量水稀释，用铁氰化钾溶液或硫酸锌溶液沉淀蛋白质，离心后取上清液 100 μL 进样分析。亚硝酸根及硝酸根分离、检测良好，检出限均为 100 ng/mL。

色谱系统条件：

色谱柱：带有 Lichrospher 100RP C_{18}(50 mm×4 mm)预柱的 Lichrospher 100RP C_{18}(250 mm×4 mm，10 μm)分离柱；流动相：加硫酸调 pH 为 6 的 0.01 mol/L 正辛胺水溶液；紫外检测器 205 nm 检测。如果用氨基磺酸胺和萘基乙二胺试剂将柱后液中的亚硝酸根衍生化为偶氮色素，于 525 nm 检测。检出限 0.7 μg/mL。

亚硝酸根离子的测定方法，国内外相关研究报道很多，除以上检测方法外还有导数分光光度法、耦合化学发光法、离子选择电极法及 GC－MS 法等。

第三节　强酸

法医毒物分析涉及的强酸主要有硫酸、硝酸、盐酸及其不同比例的混合酸。

一、性状与特点

常见强酸的理化性质见表 12－1：

强酸对人体的伤害程度取决于酸的浓度

表 12-1　常见强酸理化性质及对人体危害情况

	质量分数	密度/(g/cm³)	性　状	对人体危害
硫酸 (sulfuric acid)	98%	1.84	无色、无臭油状液体，具有强烈的脱水性，与纤维、糖等碳水化合物接触可发生炭化现象。与水混合时放热明显	强腐蚀性高毒性液体，15%以上浓度即具强腐蚀性。有皮肤刺激性，口服毒性大
硝酸 (nitric acid)	67%～71%	约 1.5	无色、发烟液体，受光线影响，可分解产生红棕色二氧化氮气体而使溶液染色，具强烈刺激性和腐蚀性	20%以上浓度属强腐蚀性液体。有皮肤刺激性，口服毒性大；酸雾吸入属剧毒
盐酸 (hydrochloric acid)	35%～37%	约 1.2	无色、发烟、有刺激性的液体。粗品略带黄色	25%以上浓度属强腐蚀性液体。有皮肤刺激性，毒性大；酸雾吸入属剧毒
混合矿酸 (王水等)	盐酸 3 份：硝酸 1 份 (体积比)		无色液体，有氯气的气味；腐蚀性极强、不稳定。临用时配制	强烈的腐蚀性

和接触的时间。未经加水稀释的酸常被称为浓酸，加水稀释数倍后称稀酸。稀酸侵害体表，处理及时不致产生严重后果。强酸伤害一般是指浓强酸造成的损伤。一般情况下，从受损伤部位取得的检验材料，用化学检验方法已不能鉴定酸的浓度，但可鉴别酸的种类。受损伤的局部体表，在一定时间内可保留较大量的酸根离子，可作为辨认强酸类别的依据。

二、检材处理

体表被酸损伤处可用水清洗液检测。衣物等受侵蚀部位，残余饮食物、胃内容物、呕吐物等检材处理同亚硝酸盐。

三、检测方法

1. 酸性　检液可直接检测，其他检材可用适量水溶解或浸提后检测。最简便的方法是用 pH 试纸测试。必要时可加水适当稀释后，用酸度计测试其 pH。

2. 硫酸根离子

(1) 检液加 10%氯化钡溶液，即产生白色硫酸钡沉淀，沉淀不溶于硝酸，也不溶于盐酸。

$$SO_4^{2-} + Ba^{2+} \longrightarrow BaSO_4\downarrow$$

(2) 检液加 10%醋酸铅溶液，即产生白色硫酸铅沉淀，沉淀既能溶于醋酸铵溶液，也能溶于氢氧化钠溶液。

3. 硝酸根离子

(1) 取检液少量置于试管壁加稀硫酸成酸性，加入数粒硫酸亚铁并溶解，沿管壁小心加入浓硫酸使之沉积于底部，两液交界处出现棕色环。

(2) 硝酸能将二苯胺氧化成醌式化合物而呈现蓝色。在检液中加入硫酸二苯胺并使之溶解，沿管壁小心加入浓硫酸使之沉积于底部，两液交界处显蓝色环。

(3) 硝酸能与马钱子碱反应生成红色产物。取检液于白瓷反应板上，加马钱子碱乙醇溶液 1 滴，呈现红色，渐变为橙红色。

4. 氯离子　检液加稀硝酸成酸性，加硝酸银溶液，即产生白色凝胶状沉淀；离心分离，沉淀加氨水即溶解，再加硝酸又析出沉淀。注意：用生理盐水淋洗创面的洗液不适合做该项检查。

$$Cl^- + Ag^+ \longrightarrow AgCl\downarrow$$

氯离子的存在很普遍，有时定性检出不足以作为鉴定依据。必要时需作定量测定。可于中性或接近中性的溶液中，以铬酸钾作指示剂，用硝酸银进行微量或半微量滴定。

第四节　强碱

法医毒物分析涉及的强碱主要有氢氧化钠(烧碱、苛性钠)、氢氧化钾、碳酸钠(纯碱)、碳酸钾、浓氨水等。

一、性状与特点

常见强酸性状、特点见表 12-2：

氢氧化钠和氢氧化钾(又称苛性碱)浓溶液侵蚀体表造成严重损伤甚至死亡的案件，多为职业性意外，也有蓄意谋害的。强碱能溶解蛋白质，受腐蚀的部位呈糜烂状，不同于强酸的腐蚀现象。

表 12-2　常见强碱理化性质及对人体危害情况

	性　状	对人体危害
氢氧化钠 (sodium hyroxide)	白色固体或粉末，极易吸收空气中的水分和二氧化碳	强腐蚀性物质。皮肤刺激性属剧毒，口服属高毒。成人口服 15%水溶液 10～15 mL 可致死
氢氧化钾 (potassium hyroxide)	白色固体或粉末，极易吸收空气中的水分和二氧化碳	强腐蚀性物质。皮肤刺激性属剧毒，口服属高毒。成人口服 15%水溶液 10～15 mL 可致死
碳酸钠 (sodium carbonate)	白色粉末或颗粒，有吸水性。水溶液呈强碱性	皮肤刺激性，口服属低毒。成人口服致死量约 30 g
碳酸钾 (potassium carbonate)	无水物为白色粉末或颗粒，有吸水性。水溶液呈强碱性	皮肤刺激性，口服属低毒。大鼠口服 LD_{50} 1.87 g/kg
氨水 (ammonia water)	无色、具强刺激性气味的液体	35%的浓度属强腐蚀性液体。皮肤刺激性属中等毒；吸入属剧毒。成人口服 25%氨水致死量约 20～30 mL

碳酸钠和碳酸钾有较强的碱性。氨水不属于强碱，腐蚀性较苛性碱弱。农业生产中多用氨水作肥料。碳酸钠、碳酸钾和氨水的毒害主要是表现为人体碱中毒。

二、检材处理

与强酸类检测的检材处理方法相同。可疑粉末或固体可用适量水溶解或浸提后供检。需要鉴别钾或钠离子时，可取水清洗液或透析液检验。

三、检测方法

1. 碱性　与前述酸性的检测方法相同。检液可直接供试，其他检材可用适量水溶解或浸提后检测。用 pH 试纸测试或经水适当稀释后，用酸度计测试其 pH。

2. 钠离子　钠离子的存在很普遍，结果判断时应慎重。

(1) 铂丝用盐酸湿润，蘸取检液，在无色火焰中燃烧，火焰呈鲜黄色。

(2) 取检液于试管中加 10%醋酸铀酰锌的稀醋酸溶液，用玻棒摩擦试管壁，产生黄色结晶性沉淀。

3. 钾离子

(1) 铂丝用盐酸湿润，蘸取检液，在无色火焰中燃烧，火焰呈紫色。透过蓝色滤光片观察更易鉴别(此时火焰呈粉红色)。

(2) 取检液蒸干，再加热灼烧以去除铵盐，冷却后，加水溶解，加 0.1%四苯硼钠溶液和醋酸，产生白色沉淀。

4. 铵离子

(1) 检液中加过量氢氧化钠溶液,加热有明显氨臭;蒸气可使湿润的红色石蕊试纸变蓝,并能使硝酸亚汞溶液湿润的滤纸变黑。

(2) 检液中加碱性碘化汞钾溶液(纳氏试剂)1滴,产生红棕色沉淀。

小结

水溶性无机毒物种类甚多,本章涉及的内容以亚硝酸盐中毒较为多见,强酸、强碱伤害则多见于职业性意外或蓄意伤害案件。检材处理中,透析法是一种分离离子(或小分子)与大分子物质的简单适用的方法。

除经典的Griess试剂法以外,现代分析技术的应用极大丰富和发展了亚硝酸盐的定性、定量分析。由于强酸、强碱的化学成分如SO_4^{2-}、Cl^-、Na^+、K^+等在正常人体中也大量存在,故其定量分析较为困难。

Summary

There are so many kinds of inorganic poisons. In this chapter, we have discussed the main water-soluble & inorganic poisons such as nitrites and other strong acids or alkalies. Dialysis is a very useful method to deal with samples if we need. The classic method for nitrites test is to use Griess Reagent. It is useful a method with high sensitivity. The application of modern analysis techniques enrich and developped the methods of testing. Sometimes, it is hard to check the acidity or alkalinity from the samples. We must pay attention to there are so many inorganic ions such as SO_4^{2-}、Cl^-、Na^+、K^+ exist in samples. As the same, it exist in a normal human body.

思考题

1. 简述透析法的原理及其适用范围。
2. Griess(格利斯)试剂法检测亚硝酸盐的原理和操作方法。
3. 一警官送来一件衣服,称是被害者被某种强酸泼洒后脱下的,请求检验是何种酸。你考虑该如何检验,请写出检验方案。

(重庆医科大学药学院 靳红卫)